

UNIVERSITE DE MONTPELLIER

FACULTE DES SCIENCES

T H E S E

présentée à la Faculté des Sciences de Montpellier
pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences (Sciences Naturelles)

ETUDE HISTOLOGIQUE, CYTOLOGIQUE ET EXPÉRIMENTALE
DE LA RÉGÉNÉRATION ET DE LA REPRODUCTION ASEXUÉE
CHEZ *Tethya lyncurium* Lamarck (= *T. aurantium* Pallas) (DEMOSPONGES)

par

Robert CONNES

Assistant

Soutenue le 14 Décembre 1968 devant la Commission d'Examen.

Jury : Melle O. TUZET,

M. J. PARIS,

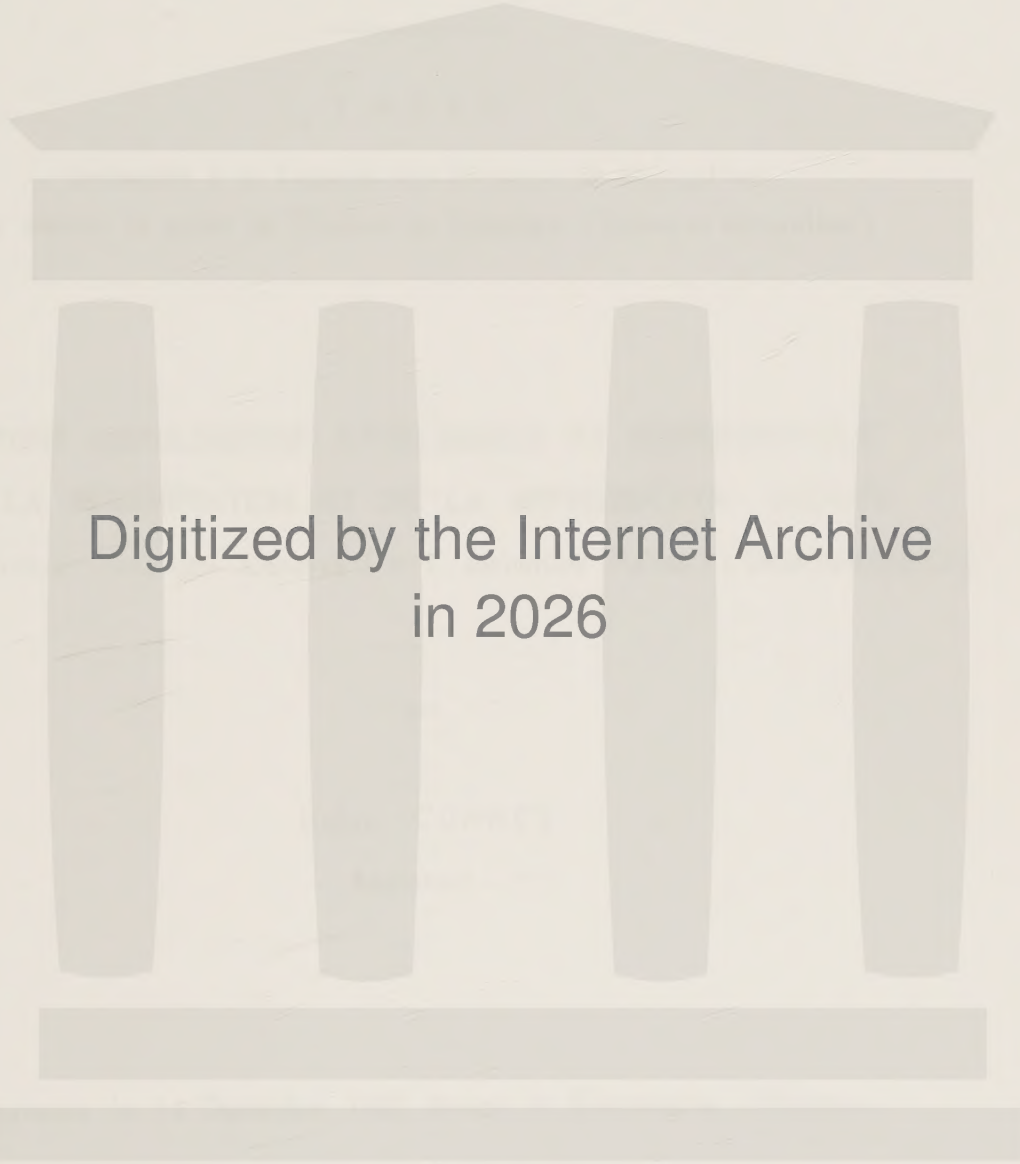
M. C. LEVI,

M. M. PAVANS DE CECCATTY,

Président

Assesseur

} Invités



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555618_0009

UNIVERSITE DE MONTPELLIER

FACULTE DES SCIENCES

T H E S E

présentée à la Faculté des Sciences de Montpellier
pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences (Sciences Naturelles)

ETUDE HISTOLOGIQUE, CYTOLOGIQUE ET EXPÉRIMENTALE
DE LA RÉGÉNÉRATION ET DE LA REPRODUCTION ASEXUÉE
CHEZ *Tethya lyncurium* Lamarck (= *T. aurantium* Pallas) (DEMOSPONGES)

par

Robert CONNES

Assistant

Soutenue le 14 Décembre 1968 devant la Commission d'Examen.

Jury : Melle O. TUZET,

Président

M. J. PARIS,

Assesseur

M. C. LEVI,

M. M. PAVANS DE CECCATTY,

} Invités

Doyen A. CASADEVALL

Délégué au Conseil de l'Université Ch. SAUVAGE
Premier Assesseur

Délégué au Conseil de l'Université P. DUMONTET
Deuxième Assesseur

Directeur du Collège Scientifique J. RABINOVITCH
Universitaire de PERPIGNAN

Directeur de l'I.P.E.S. M. MAURIN

Chef des Services Administratifs E. SIAU .

Doyen honoraire : P. MATHIAS

Professeurs honoraires :

R. JACQUES	J. SOULA
M. CASTERAS	G. DENISOT
E. CARRIERE	J. GRANIER
E. TURRIERE	Ch. BOUHET

Professeurs titulaires :

M.	M. MOUSSERON	Chimie Organique
M.	L. EMBERGER	Botanique
M.	J.P. ROIG	Physique
M.	P. CHATELAIN	Minéralogie et Cristallographie
Mle	O. TUZET	Zoologie
Mle	G. CAUQUIL	Chimie Organique
M.	G. COUCHET	Mécanique Supérieure
M.	J. SALVINIEN	Chimie - Physique
Mle	A.M. VERGNOUX	Physique
M.	J. AVIAS	Géologie
M.	P. VIELES	Chimie
M.	J. RABINOVITCH.....	Physique (C.S.U. P.)
M.	E. KAHANE	Chimie Biologique
M.	J.J. MOREAU	Mécanique Rationnelle
M.	B. CHARLES	Mathématiques Pures
M.	J. MOTTE	Biologie Végétale
M.	R. JOUTY	Physique
M.	P. DUMONTET	Physique
M.	R. LEGENDRE	Zoologie
M.	I. ASSENMACHER	Physiologie Animale
M.	A. CASADEVALL	Chimie Organique
M.	B. PISTOULET	Physique
M.	Ch. ROUMIEU	Analyse Supérieure
M.	J. ROBIN	Physique
M.	A. POTIER	Laboratoire des Acides Miné- raux
M.	R. LAFONT.....	Physique
M.	R. JACQUIER	Chimie
M.	J. FALGUEIRETTES	Minéralogie
M.	J. REGNIER	Chimie
Mme	J. CHARLES	Mathématiques
M.	P. CAILLON	Physique
M.	J. ROUZAUD	Chimie
M.	Ch. SAUVAGE.....	Botanique

M. H. CHRISTOL Chimie (E.N.S.I.)
 Mme G. VERNET Biologie Animale
 M. L. CECCHI Physique
 M. H. ANDRILLAT..... Astronomie
 M. M. SAVELLI Physique
 M. M. MATTAUER Géologie
 M. L. EUZET Zoologie (C.S.U.P.)
 M. C. DELOUPY Physique
 M. L. GRAMBAST..... Botanique

Professeurs sans chaire :

Mme M.L. de POUQUES Botanique (C.S.U. P.)
 M. P. MURAOUR Géophysique Appliquée
 M. G. TOURNE Chimie
 M. J. REMY Géologie
 M. P. DEMANGEON Géologie
 M. A. BONNET Botanique
 Mme S. ROBIN Physique
 Mme Ch. DUBOUL-RAZAVET Géologie (C.S.U. P.)
 M. E. GROUBERT Physique
 Mme H. GUASTALLA Biologie Physico-Chimique
 M. G. LAMATY..... Chimie
 M. F. PROUST Géologie
 Mle A. BAILLETTE Mathématiques (C.S.U. P.)
 M. A. BASSOMPIERRE Physique
 M. R. MARTY Psychophysiologie
 M. M. MAURIN Chimie
 M. N. ROBY Mathématiques
 Mme N. PARIS Physiologie Végétale

Professeurs Associés :

M. E. AKUTOWICZ Mathématiques
 M. A. MICALI Mathématiques
 M. C. VAGO Biologie Animale
 M. K. KOHLER Biochimie

Maîtres de Conférences :

M. R. GAUFRES Chimie
 M. J.J. SOULIER..... Chimie (C.S.U.P.)
 M. J. PARIS Zoologie
 M. P. MOLINO Mathématiques

M.	G. BOUGNOT	Physique
M.	Y. GUITTON	Physiologie Végétale (C.S.U. P.)
M.	F. BOMBRE	Physique (C.S.U. P.)
M.	C. PUISSEGUR	Biologie Animale (C.S.U. P.)
M.	P. VIALLET	Chimie (C.S.U. P.)
M.	L. THALER	Géologie
M.	J. LEGRAND	Physiologie Animale
M.	M. ROUZEYRE	Physique
M.	P. SABATIER	Mathématiques
M.	Ch. CASTAING	Mathématiques (C.S.U. P.)

Chargés d'Enseignement :

M.	M. LEFRANC	Mathématiques
M.	A. STURER	Mathématiques
M.	C. BENZAKEN	Mathématiques
Mle	Ch. BARBANCE	Mathématiques (C.S.U. P.)

S O M M A I R E

AVANT-PROPOS	1
INTRODUCTION	3
MATERIEL ET TECHNIQUES	7

Chapitre I : ASPECT MORPHOLOGIQUE ET ANATO- MIQUE DE TETHYA LINCURIUM . HISTOLOGIE

ET CYTOLOGIE	13
I - Morphologie et anatomie	13
II - Histologie et cytologie	14
A - Pinacocytes	15
B - Choanocytes	17
C - Lophocytes	21
D - Collencytes	22
E - Polyblastes	23
F - Archaeocytes	25
G - Amoebocytes s.s.	28
H - Cellules sphéruleuses	28
I - Cellules grises	35
J - Cellules microgranulaires	37
K - Scléroblastes	37
L - Cellules germinales	39
M - Cellules de type nerveux ou musculaire	39

Chapitre II : RECONSTITUTION D'INDIVIDUS A

PARTIR DE FRAGMENTS DU CORPS	41
I - Historique	41
II - Comportement de différents types de fragments de <u>Tethya</u> : aspect macroscopique de la régénération ...	43
A - Demi- <u>Tethya</u>	44
B - Quarts de <u>Tethya</u>	48
C - Huitièmes de <u>Tethya</u>	50
D - Seizièmes de <u>Tethya</u>	51
E - Fragments de cortex	51
F - Fragments de moelle	51
G - Résistance des Eponges en aquarium : réussite ou échec de l'expérimentation	52
III - Etude histologique du tissu de cicatrisation	55
IV - Transformations du choanosome au cours de la reconstitution	59
V - Structure d'une <u>Tethya</u> de quelques mois, re- constituée à partir d'un quart d'ectosome	62
VI - Types particuliers d'évolution	64
A - Echecs de la reconstitution	64
B - Phénomènes tardifs d'involution..	69
VII - Conclusion	70

Chapitre III : RECONSTITUTION DE TETHYA A

PARTIR DE CELLULES DISSOCIEES	77
I - Historique	77
II - Etat de la suspension cellulaire immédiatement après la dissociation	81

III	- Agrégation des cellules et formation des masses de reconstitution	82
	A - Comportement d'ensemble des cellules dissociées	82
	B - Marche de la réagrégation	84
IV	- Etat des cultures âgées de cinq heures	86
V	- Evolution des cultures à partir de la cinquième heure	89
	A - Réapparition des choanocytes normaux et formation des cor- beilles vibratiles	89
	B - Aspect du mésenchyme	90
	C - Formation des lacunes et des canaux.....	91
	D - Fixation des sphérules	92
	E - Reconstitution du squelette	94
VI	- Involution des agrégats	95
VII	- Conclusion	96

<u>Chapitre IV</u> : ETUDE DU BOURGEONNEMENT NATUREL ET " EXPERIMENTAL "		101
I	- Historique	101
II	- Variations du bourgeonnement dans la nature	103
	A - Variations du pourcentage d'indivi- dus bourgeonnants en fonction des mois	104
	B - Variations du nombre moyen et maximum de bourgeons par individu et par mois	106

C - Variations de la taille moyenne des individus sans bourgeons et porteurs de bourgeons	109
D - Variations du pourcentage d'in- dividus bourgeonnants en fonction de la couleur de l'Eponge	109
E - Localisation du bourgeonnement...	110
III - Aspects morphologiques du bourgeonnement	112
A - Provocation du bourgeonnement...	112
B - Modalités d'apparition des sorites..	114
C - Evolution des bourgeons après leur détachement	117
IV - Problèmes posés par le bourgeonnement . Modalités d'étude	118
V - Les apophyses corticales et leur rôle	120
VI - Capacités de développement de certaines aspérités corticales	122
A - Composition histologique des aspérités fraîchement séparées du cortex	123
B - Evolution des aspérités	124
VII - Formation et développement des bourgeons	125
A - Première étape du bourgeonne- ment : l'expansion filamenteuse....	125
B - Structure du jeune bourgeon au moment de sa formation	128
C - Bourgeon de dix-huit jours	129
D - Bourgeon de trois mois	131
E - Bourgeons de huit à neuf mois	132
F - Bourgeon de dix mois (jeune <u>Tethya</u>)	133

VIII - Conclusion	140
 <u>Chapitre V : MODIFICATIONS HISTOLOGIQUES LIEES</u> <u>A DES REACTIONS DE DEFENSE DE TETHYA VIS-</u> <u>A-VIS D'ORGANISMES ETRANGERS</u>	
I - Historique	145
II - Rôle des spicules dans l'élimination de corps étrangers	146
III - Réaction de l'Eponge à la présence d'un Amphipode ..	148
IV - Conclusion	151
 <u>Chapitre VI</u> PROLIFERATION ASEXUEE PAR BOUR- GEONNEMENT BASAL CHEZ <u>SYCON RAPHANUS</u>	
I - Aspect macroscopique du bourgeonnement	155
II- Caractères anatomiques et histologiques des <u>Sycon</u> en bourgeonnement	157
III- Conclusion	160
 RESUME ET CONCLUSIONS	 163
 BIBLIOGRAPHIE	 173

A V A N T - P R O P O S

Avant d'exposer le résultat de mes recherches effectuées au Laboratoire de Zoologie de la Faculté des Sciences de Montpellier, je tiens à exprimer ma reconnaissance et ma gratitude à tous ceux qui m'ont permis de les réaliser ou qui m'ont fait l'honneur de les juger .

En m'accueillant dans son Service comme Assistant et élève, Mademoiselle le Professeur O. TUZET a mis à ma disposition tous les moyens nécessaires à la poursuite de mon travail . Elle m'a fait bénéficier, jour après jour, de sa grande compétence dans le domaine de l'histologie et des Spongiaires . Il m'est aujourd'hui particulièrement agréable de l'assurer de ma profonde et respectueuse reconnaissance pour les conseils éclairés qu'elle n'a cessé de me prodiguer et pour la grande bonté dont elle m'a toujours entouré .

Que Monsieur le Professeur C. LEVI, Directeur du C.N.R.S. et éminent Spongiologue veuille trouver ici le témoignage de ma gratitude pour avoir accepté de juger cette thèse . La lecture de ses nombreuses publications m'a permis, au cours des années, de me familiariser avec un matériel difficile mais passionnant

Monsieur le Professeur M. PAVANS DE CECCATTY de la Faculté des Sciences de Lyon, m'a fait bénéficier à plusieurs reprises de sa vaste érudition touchant la cytologie des Eponges et de ses idées originales sur ce groupe . J'ai puisé dans ses conversations et ses conseils nombre d'encouragements et d'idées . En lui exprimant toute mon admiration pour ses travaux, c'est avec beaucoup de plaisir que je lui adresse aujourd'hui mes vifs remerciements .

Je suis particulièrement heureux de témoigner à Monsieur le Professeur J. PARIS ma reconnaissance et ma sympathie. Sa thèse sur les greffes d'Éponges a été mon premier guide d'histologie et je ne saurais trop le remercier de m'avoir récemment accepté dans son équipe de recherche .

Mes remerciements vont également à Mademoiselle Y. THINEY, Assistant de Zoologie à la Faculté des Sciences de Lyon qui m'a aimablement cédé deux clichés photographiques pour compenser une défectuosité des miens .

Trop nombreux pour être cités sont mes collègues et amis du Laboratoire de Zoologie, membres du personnel scientifique ou technique, qui m'ont aidé et encouragé avec beaucoup de désintéressement . Qu'ils veuillent trouver ici l'expression de ma gratitude pour le concours qu'ils m'ont apporté dans mon travail

Je tiens à souligner l'aide précieuse de Madame S. OUSTAU qui m'a initié aux méthodes de l'histologie classique et de la microscopie électronique . Sa grande compétence technique et ses conseils amicaux m'ont été d'un précieux secours .

Je ne saurais passer sous silence de dévouement de Mademoiselle M. BOISFEAU dans le domaine du secrétariat et de la bibliothèque, de Monsieur J. BARRAL pour la réalisation des photographies et de Mademoiselle R. DELFRAYSSE qui a bien voulu se charger du travail ingrat de dactylographie de ce mémoire . A ces trois collaborateurs, je dis mon plus profond merci .

Il m'est enfin agréable d'exprimer ma reconnaissance aux Chercheurs et Techniciens de la Station Biologique de Sète : Monsieur R. ORMIERES, Chargé de Recherche au C.N.R.S., Messieurs MARCIANO, JALABERT et ANTIGNAC ne m'ont jamais ménagé leur peine pour me procurer du matériel ou surveiller mes élevages.

I N T R O D U C T I O N

Dans son Histoire des animaux (Ch. XVI, livre V), ARISTOTE déclare en 350 av. J.-C. : " Si l'Eponge n'est que coupée, elle renaît de ce qui reste attaché au sol et se remplit à nouveau " . Cette constatation, ainsi mentionnée pour la première fois, allait être le point de départ d'une multitude d'observations et d'expériences destinées à éclaircir le problème de la régénération et de la propagation asexuée chez les Spongiaires .

Situés à la base de l'arbre généalogique des Métazoaires, ces animaux primitifs ont été pendant longtemps considérés comme des colonies de Protistes . Une meilleure connaissance de leur histologie, de leur embryologie et la découverte récente d'éléments de type nerveux a permis de les intégrer peu à peu dans le grand ensemble des Métazoaires . La reconnaissance de cette qualité n'élimine pas pour autant les nombreux problèmes liés à leur biologie, en particulier celui de la différenciation cellulaire, qui ne se manifeste pas toujours chez eux d'une manière constante et irréversible .

Certes, l'étude histologique d'un individu normal permet de reconnaître différentes catégories cellulaires agencées en tissus, jouant souvent le rôle d'organes élémentaires (corbeilles vibratiles, canaux inhalants et exhalants, etc ...) . Mais, la même étude poursuivie sur des Eponges ayant subi certains traumatismes aboutit à de grandes difficultés dans la reconnaissance des cellules et parfois même à l'impossibilité de détecter les principaux tissus . De tels bouleversements

accompagnent les phénomènes de reproduction asexuée (formation de gemmules ou de bourgeons), de régénération (remplacement des parties perdues de l'organisme) ou d'embryogenèse somatique au sens de TOKIN (reconstitution d'individus à partir d'un lot de cellules somatiques).

La plupart des auteurs qui se sont penchés avant nous sur ces divers aspects de la biologie des Spongiaires, sont arrivés à des conclusions souvent divergentes, parfois contradictoires, au sujet des fonctions cellulaires. Existe-t-il une "réserve embryonnaire" d'éléments totipotents se renouvelant par multiplication, sans apport des autres catégories de cellules, ou peut-on au contraire admettre l'existence d'un "carrefour de la dynamique cellulaire" le polyblaste ? Une même cellule peut-elle assumer successivement plusieurs fonctions ou s'engage-t-elle d'emblée dans une voie irréversible ? Certains éléments tels que les choanocytes sont-ils incapables de rentrer dans la lignée amoebocytaire et sont-ils voués à être phagocytés en toutes circonstances ? Quelles sont les catégories cellulaires qui interviennent dans la cicatrisation, la régénération, l'embryogenèse somatique ou le bourgeonnement ? Pour essayer de répondre aux nombreuses questions qui se posent encore, nous avons décidé d'entreprendre une série d'expériences sur une Démosponge bien connue Tethya lyncurium.

En nous appuyant sur une étude ultrastructurale qui nous a permis de compléter les connaissances histologiques et cytologiques déjà acquises, nous avons envisagé le comportement des diverses catégories cellulaires dans les Eponges soumises à différents types de traumatismes : fragmentation, dissociation, bourgeonnement provoqué, traumatisme parasitaire.

Nous avons en effet constaté, dès le début de nos travaux, que le rôle joué par tel ou tel élément variait d'un phénomène biologique à un autre, et que certains traumatismes, comme la dissociation, créaient des conditions artificielles ne permettant pas de juger du comportement réel des cellules mises en jeu . Tethya lyncurium, comme beaucoup d'Eponges siliceuses, possède un important volume de substance fondamentale, engendré et renouvelé en permanence par des cellules en migration . Cette mésoglée et les éléments mésenchymateux qu'elle héberge constituent une sorte de " milieu intérieur " au sein duquel s'effectuent de nombreuses étapes de la dynamique cellulaire . Si la désintégration est complète, les cellules n'évoluent pas normalement comme dans le cas de traumatismes plus faibles .

Il nous a enfin paru intéressant de comparer dans ce travail l'importance du mésenchyme chez les Eponges calcaires et siliceuses, afin de montrer que la lignée amoebocytaire acquiert, au cours de l'évolution, des potentialités qu'elle n'avait pas à l'origine .

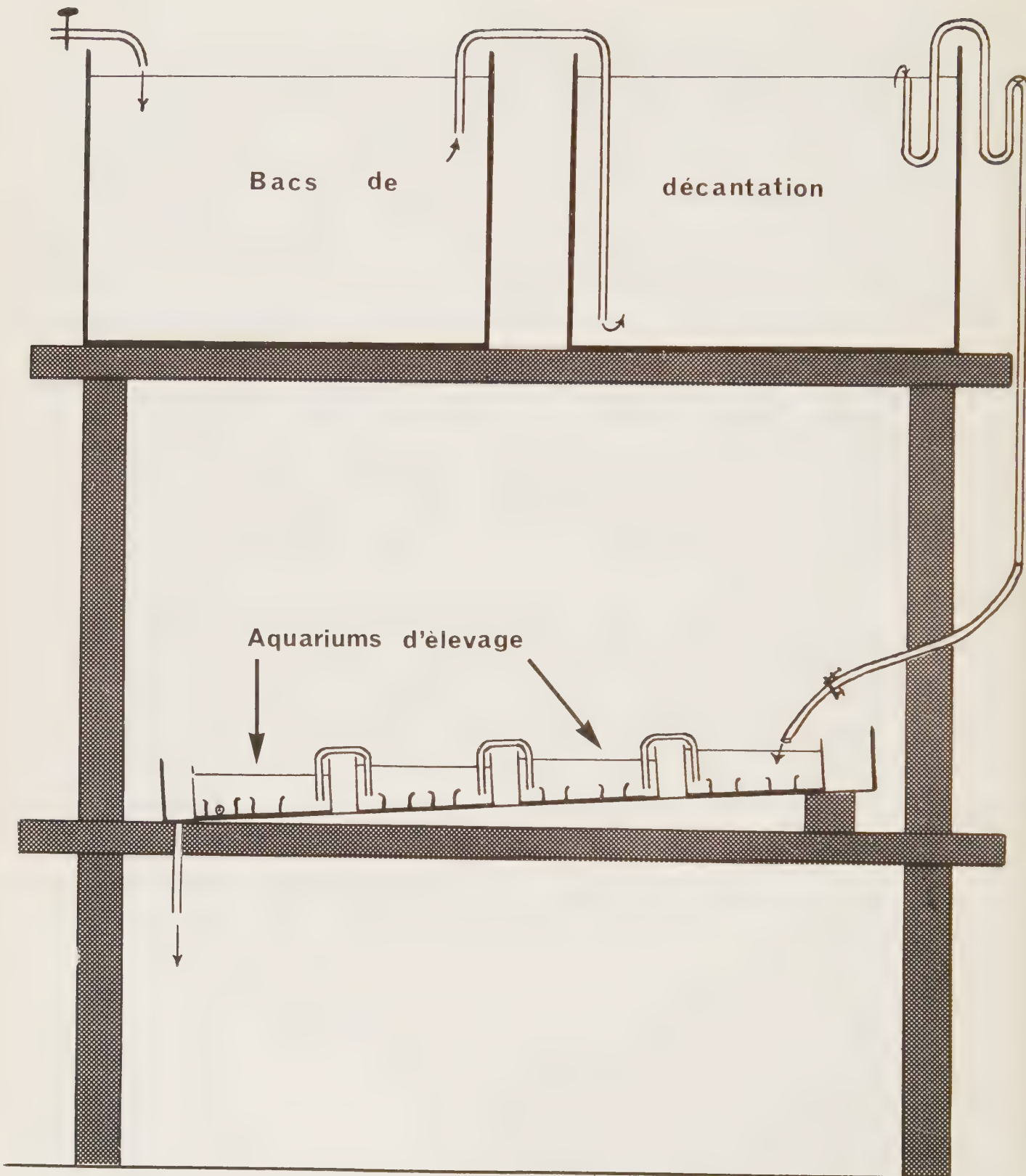


FIGURE 1. Schéma du circuit d'eau de mer utilisé pour la conservation des Eponges en expérience.

M A T E R I E L E T T E C H N I Q U E S

Les Tethya récoltées par chalutage sur les fonds à Microcos-
mes des environs de SETE, ont été placées pendant quelques jours
dans les bacs d'un circuit d'eau de mer courante . C'est dans les
mêmes récipients qu'ont été effectuées les expériences de fragmenta-
tion et l'élevage des bourgeons . Pour éviter l'apport excessif de
particules organiques par l'eau courante, nous avons installé sur son
passage deux grands réservoirs destinés à la décantation (Fig. 1) .

Les Sycon ont été prélevés dans les aquariums de la Sta-
tion Biologique de SETE et du Laboratoire ARAGO à BANYULS-
SUR-MER . Leur élevage s'est avéré très difficile après transport.

Nous donnerons successivement les techniques utilisées pour
la reconstitution à partir de cellules dissociées, pour la microscopie
photonique et la microscopie électronique .

I - OBTENTION ET " CULTURE " DES CELLULES DISSO- CIEES .

Pour éviter un brusque changement de milieu aux cellules dis-
sociées de Tethya, nous avons conservé pendant 8 à 10 jours les
Eponges entières destinées à l'expérimentation, dans un circuit fermé
d'eau de mer, à une température de 13° . C'est dans ce même cir-
cuit qu'ont été placées les suspensions cellulaires après dissociation .
Les Tethya soigneusement nettoyées, sont coupées en deux moitiés et
fortement exprimées à travers une triple épaisseur de soie à bluter
très fine . La majorité des spicules est ainsi éliminée et l'Eponge
suffisamment désintégrée pour qu'on puisse la considérer comme une
suspension de cellules isolées . Des groupes de cellules, en particu-
lier des fragments de corbeilles vibratiles, passent cependant sans se
dissocier . Le filtrat d'origine est dilué à moitié, au tiers et au quart,
avec de l'eau de mer filtrée . On verse la suspension cellulaire dans
de petites boîtes de Pétri immergées dans l'eau du circuit . Des pla-
ques de verre maintiennent les boîtes fermées pendant 3 ou 4 h. pour
éviter que le courant n'emporte les cellules avant leur dépôt sur le
substrat . Des photographies prises à intervalles réguliers permettent
de suivre la marche de l'agglutination . Le comportement des diffé-

rentes catégories cellulaires au cours de la reconstitution est observé grâce aux méthodes de l'histologie classique . Nous avons également réalisé quelques cultures en boîtes de Pétri dont l'eau était changée quotidiennement et additionnée d'antibiotiques et d'antifongiques (Pénicilline : 100.000 u ; Streptomycine : 10 mg ; Mycostatine : 30 mg/l.) .

II - TECHNIQUES D'HISTOLOGIE POUR LA MICROSCOPIE PHOTONIQUE .

Nous avons utilisé en microscopie photonique des techniques classiques ayant déjà fait leurs preuves pour l'étude des Spongiaires.

A - Fixation .

- Formol neutre à 10 p. 100
- CARNOY
- BOUIN aqueux - BOUIN alcoolique de DUBOSCQ-BRASIL
- CHAMPY - HIRSCHLER G.

B - Inclusion .

- Paraffine pour les pièces importantes . Gélose-paraffine (technique de CHATTON) pour les agrégats de cellules dissociées .

C - Coloration .

1°) Colorations générales :

- Hématoxyline de GROAT
- Hématoxyline ferrique de HEIDENHAIN
- Triple coloration de PRENANT avec hématoxyline de GROAT ou de HEIDENHAIN .
- Trichrome de MASSON
- Coloration à l'Azan de HEIDENHAIN .

2°) Colorations plus spéciales et techniques d'histochimie

- Hématoxyline phloxine de GOMORI
- Méthode de Van GIESON au jaune de méthanile
- Fuchsine paralaldéhyde de GABE
- Réaction de FEULGEN
- Carmin de BEST
- Réaction de BAUER
- Réaction à l'acide périodique-SCHIFF

- Bleu de toluidine
- Bleu alcyan
- Noir soudan III

III - TECHNIQUES D'HISTOLOGIE POUR LA MICROSCOPIE ELECTRONIQUE .

A - Fixation .

Deux types :

- Fixation simple au tétroxyde d'osmium
 - Double fixation à la glutaraldéhyde et au tétroxyde d'osmium .
- Tous les produits doivent être conservés au froid .

1°) Fixation simple :

a) Tétroxyde d'osmium tamponné selon PALADE (pH 7,4)

Tampon : (A) : Solution 0,14 M d'acétate de sodium
(1,904 g/100 cc eau bidistillée)

(B) : Solution 0,14 M de véronal sodique
(2,58 g/100 cc eau bidistillée)

(C) : Acide chlorhydrique 0,1 N

Mélanger au moment de l'emploi : 1 vol.A + 1 vol.B
+ 1 vol. C + 1 vol. eau bidistillée

Fixateur : 1 vol. Os O₄ 2 p. 100 + 1 vol. tampon

Fixation : 1 h. à 0° C.

Variante fréquemment utilisée : remplacement de l'eau bidistillée par de l'eau de mer filtrée ..

b) Tétroxyde d'osmium tamponné selon BOROJEVIC et LEVI (pH 7,2)

Tampon : (A) : Solution de phosphate de potassium monopotassique
(9,078 g/l eau bidistillée)

(B) : Solution de phosphate de sodium disodique
(23,8 g Na 2HPO₄ - 12 H₂ O /l eau bidistillée)

Mélanger au moment de l'emploi : 2 vol.A + 8 vol.B

Fixateur : 1 vol. Os O₄ 2 p. 100 + 1 vol. tampon

Fixation : 1 h. à 1 h. 30 à 0° C.

Variante : remplacement de l'eau bidistillée par de l'eau de mer filtrée.

c) Tétroxyde d'osmium tamponné selon LEVI (pH 7,2)
(Cité par VICENTE) .

Tampon : (A) : Solution 0,2 M de phosphate de sodium monosodique
(27,8 g/l eau bidistillée)

(B) : Solution 0,2 M de phosphate de sodium disodique
(53,65 g/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - 7 \text{H}_2\text{O}$ ou 71,7 g/l
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - 12 \text{H}_2\text{O}$)

(C) : Solution 1,6 M de chlorure de sodium
(93,2 g/l eau bidistillée)

(D) : Mélange de 2 vol. A et 8 vol. B
(Ajuster ces proportions pour obtenir un pH 7,2) .

Fixateur : 2 vol. OsO_4 4p. 100 + 1 vol. C + 1 vol. D .

Fixation : 1 h. à 1 h. 30 à 0° C.

2°) Double fixation :

a) Tampon : Phosphate de sodium disodique à 11,87 p.
1000 : 63 cc
Phosphate de potassium monopotassique à
9,07 p. 1000 : 37 cc .

Fixateur : 2 cc tampon + 1 cc glutaraldéhyde + 4 cc eau bidistillée

Fixation : 2 h. à 4° C.
Rinçage au tampon .

Postfixation : tétr oxyde d'osmium tamponné selon PALADE .

b) Technique de VACELET (Citée par VICENTE)

Tampon : eau de mer : 9 cc
solution 0,2 M de phosphate de sodium monosodique : 0,7 cc
solution 0,2 M de phosphate de sodium disodique : 6,3 cc

Fixateur : 16 cc tampon + 4 cc glutaraldéhyde .

Fixation : 2 h. au froid (0 à 4° C.)
Rinçage prolongé à l'eau de mer additionnée de 6,5 g/l
de chlorure de sodium .

Postfixation : tétr oxyde d'osmium tamponné selon PALADE, le tampon étant préparé avec de l'eau de mer .

B - Déshydratation ; coloration sur blocs .

1. Après plusieurs rinçages au tampon et à l'eau bidistillée, déshydratation dans une série d'alcools de plus en plus concentrés (30° : 15 mn. ; 50° : 15 mn. ; 70° : 15 mn. ; 95° : 15 mn. ; 100° : 3 fois 20 mn.) .

2. Coloration sur blocs à l'acide phosphotungstique à 1 p. 100 dans l'alcool 100° : 2 h.

3. Bain d'oxyde de propylène : 1 h. température ambiante .

C - Préinclusion ; inclusion .

1°) Araldite :

a) Produits utilisés :

Mélange I : Araldite (1 vol.) 1 vol.
Durcisseur (1 vol.)
Phtalate de butyle 1/20 vol.

Mélange II : Mélange I 1 vol.
Accélérateur..... 1/40 vol.

b) Bain de transition :

Mélange I : 1 vol. 1 h. température ambiante
Oxyde de propylène : 1 vol. + 1 h. 48° C.

c) Bains d'araldite :

Mélange I : 48 h. 48° C.
Mélange II : 48 h. température ambiante .

d) Inclusion dans le mélange II, dans des capsules de gélatine . Polymérisation : 8 jours, 48° C.

2°) Epon :

a) Produits utilisés :

Mélange I : Epikote 812 62 cc
DDSA 100 cc

Mélange II : Epikote 812 100 cc
MNA 89 cc

Mélange III: (au moment de l'emploi) 60 vol. I + 40 vol. II

b) Bain de transition :

Mélange III: 1 vol. 2 bains de 1 h. température ambiante
Oxyde de propylène : 1 vol.

c) Bains d'épon :

Mélange III: 3 bains d'une demi-journée, température ambiante
Mélange III + Accélérateur (DMP 30 : 1,5 p. 100) : 1 h. température ambiante .

d) Inclusion :

Mélange III + Accélérateur dans des capsules de gélatine .

Polymérisation : 12 h. à 37° C., 12 h. à 48° C., 24 h. à 60° C.,
8 jours à température ambiante .

D - Colorations sur grilles .

1°) Acétate d'uranyle :

- Préparer une solution à 10 p.100 dans l'alcool méthylique .
- Laisser reposer 20 mn. à l'abri de la lumière et centrifuger 5 mn.
- Colorer avec le surnageant pendant 1 h. à l'obscurité .
- Rincer 3 ou 4 fois à l'eau distillée .

2°) Technique de REYNOLDS au citrate de plomb :

- Mélange :

nitrate de plomb	1,33	g
citrate de plomb	1,76	g
eau bidistillée	30	cc
soude normale	8	cc
- Diluer le mélange précédent à 50 p.100 dans l'eau bidistillée et centrifuger .
- Colorer par flottaison sur goutte en chambre humide (30 mn. pour les inclusions à l'araldite, 15 à 20 mn. pour les inclusions à l'épon).

E - Coupes semi-fines .

Coupes de 1 μ d'épaisseur observées de deux manières :

- directement au microscope à contraste de phase
- après double coloration au vert de malachite à 4 p.100 dans l'eau et au violet-cristal à saturation dans l'eau .

F - Observation des grilles .

Microscope ZEISS Em 9 A .

CHAPITRE I

ASPECT MORPHOLOGIQUE ET ANATOMIQUE DE

TETHYA LYNCURIUM . HISTOLOGIE ET CYTOLOGIE

L'Eponge qui a fait l'objet de la majeure partie de ce travail et des publications qui l'ont précédé, est une Démospone Monaxonide (Hadromérine) de la famille des Donatiidae . Le nom de genre (Tethya) revient à LAMARCK (1815), celui d'espèce (aurantium) à PALLAS (1766) . LINNE (1767) a fourni pour la même Eponge le nom spécifique lyncurium qui a prévalu pendant longtemps et que TOPSENT a adopté dans son " étude monographique des Spongiaires de FRANCE " (1900) . Par souci d'uniformité avec les auteurs qui nous ont précédé (TUZET, PAVANS DE CECCATTY et PARIS), nous continuerons à utiliser la nomenclature Tethya lyncurium .

I - MORPHOLOGIE ET ANATOMIE .

Bien connue sur les côtes méditerranéennes où elle est abondante, Tethya lyncurium est une Eponge sphérique de 1 à 6 cm de diamètre (moyenne sur 100 individus : 3,7 cm), dont la coloration très variable va du jaune pâle à l'orange foncé . Sa surface verruqueuse est hérissée de petites saillies à sommet plat et polygonal que soutiennent des faisceaux de spicules rayonnant à partir du centre . Par suite de modifications anatomiques essentiellement liées au bourgeonnement (et sur lesquelles nous aurons l'occasion de revenir), les

verrucosités peuvent s'étirer en apophyses coniques . Le passage d'une forme à l'autre ayant été observé en élevage, nous pouvons écarter l'hypothèse de CHERFILS (1953) qui voyait dans cette différence morphologique, l'existence de deux variétés de la même espèce .

La couleur et l'aspect général de la surface confèrent à cette Eponge l'allure d'une orange, ressemblance qui est à l'origine du nom spécifique (aurantium) et du nom vulgaire (orange de mer) .

La fixation au substrat est assurée par une base aplatie, entourée d'expansions radiculaires plus ou moins étalées .

Deux zones distinctes et concentriques, l'écorce (Syn. : cortex, ectosome) et la moelle (Syn. : choanosome) révèlent l'aspect le plus caractéristique de Tethya .

Le système aquifère débute au niveau de pores situés à la surface, entre les verrucosités . De fins canaux conduisent dans des cavités superficielles d'où partent les canaux inhalants qui vont se ramifier dans la moelle et atteindre les corbeilles vibratiles . Les canaux exhalants remontent vers l'écorce et s'ouvrent à la surface par un nombre limité d'oscules situés en un même point apical, entouré de petits diverticules . Il est très rare que la zone osculaire occupe une autre position .

II - HISTOLOGIE ET CYTOLOGIE .

Sur le plan histologique, cette Eponge présente la particularité d'avoir la majeure partie de son mésenchyme concentrée dans l'écorce, la moelle étant avant tout formée de choanocytes . Une assise de pinacocytes recouvre l'individu et tapisse les canaux . A part cette couche de protection, seuls les choanocytes sont en contact

direct avec l'eau de mer . Toutes les autres catégories cellulaires se déplacent dans une abondante mésoglée, très développée au niveau du cortex où le collagène se développe en vastes plages et en faisceaux. Les choanocytes ont une localisation strictement médullaire . Les autres types de cellules se rencontrent à différents niveaux mais les éléments mésenchymateux sont beaucoup plus nombreux dans l'écorce que dans la moelle .

Pour reprendre la division classique en trois couches, nous distinguerons : un ectoderme formé de pinacocytes, un endoderme constitué par des choanocytes et un abondant mésenchyme qui a des rapports étroits avec les précédents .

A - Pinacocytes (Fig. 2 A) .

Assurant le revêtement externe de l'Eponge (exopinacocytes) ou celui des lacunes et canaux du système aquifère (endopinacocytes), ces cellules sont plates, étalées, avec un léger renflement au niveau du noyau . On les aperçoit le plus souvent en coupe et les parties distales se présentent alors comme de simples filaments . Les exopinacocytes sont plus aplatis et plus étroitement liés entre eux que les endopinacocytes . Ces derniers possèdent parfois un noyau nucléolé et quelques granulations intracytoplasmiques que l'on observe rarement dans les pinacocytes de surface . A l'exception de ces légères différences, les cellules épithéliales présentent toujours le même cytoplasme vacuolaire rappelant beaucoup celui des choanocytes . Les mitochondries sont rares et l'appareil de Golgi réduit . Le noyau, généralement ovoïde varie d'une cellule à l'autre car les pinacocytes sont fréquemment renouvelés à partir d'archaeocytes et de lophocytes qui leur confèrent pendant un certain temps quelques-uns de leurs caractères . Il en est de même pour les granulations intracytoplasmiques .

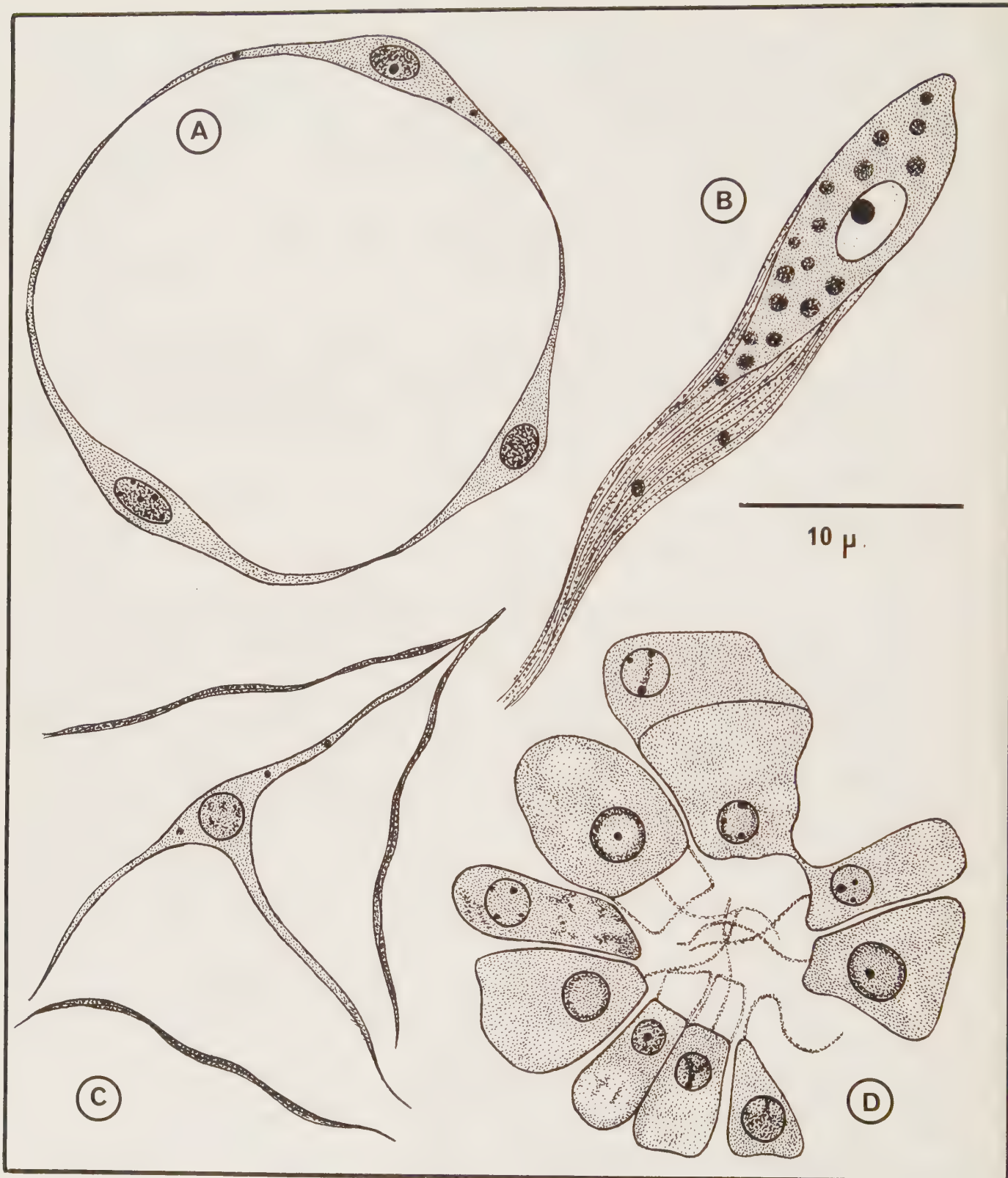


FIGURE 2. A. Endopinacocytes en bordure d'un canal. B. Lophocyte avec panache fibrillaire. C. Collencyte. D. Choanocytes réunis en corbeille.

B - Choanocytes (Fig. 2 D et Pl. I) .

Groupées en corbeilles dans la zone médullaire, ces petites cellules ont un noyau dont la position ne paraît pas constante . Il peut posséder un nucléole et présente souvent une légère affinité pour la fuchsine dans la réaction de Feulgen, ce qui n'est pas le cas dans la majorité des autres cellules . Son diamètre ne dépasse pas 1,5 à 2 μ . Le corps cellulaire, arrondi à son extrémité basale, se termine dans la lumière de la chambre par une collerette entourant un flagelle . Le cytoplasme clair héberge souvent une grande vacuole postérieure et une ou deux plus petites . Beaucoup de choanocytes sont étroitement accolés et paraissent fréquemment unis, dans la partie antérieure, par une sorte de " membrane de SOLLAS " qui n'est en réalité qu'un artefact . Cette formation dérive de l'accolement fortuit ou causé par la fixation, des villosités de la collerette (cette interprétation est confirmée par l'étude en microscopie électronique) .

La taille moyenne des choanocytes calculée à partir d'une vingtaine de mesures est de 4,2 sur 2,9 μ (max.: 5,3 x 3,2 μ ; min.: 2,8 x 2 μ) . La forme cylindrique ou prismatique est la plus commune mais la tronconique n'est pas rare . Le flagelle, de longueur variable, est entouré d'une collerette dont le diamètre basal est de 2,2 μ et la hauteur 3 à 4 μ .

Les choanocytes sont rarement libres à l'intérieur d'une corbeille . Dans la plupart des cas, ils adhèrent étroitement les uns aux autres et c'est souvent la fixation qui les sépare . Ils peuvent cependant être isolés par une mince couche de mésoglée en continuité avec la partie sous-jacente . Des cas semblables ont peut-être poussé certains auteurs tels que BIDDER à émettre l'hypothèse d'un ciment intercellulaire . La cohésion des cellules dans les corbeilles paraît

beaucoup plus liée à la contiguité des membranes cellulaires comme chez Oscarella (LEVI, 1962), qu'à la présence d'interdigitations signalées par RASMONT (1959) chez Ephydatia. Certes, les parties latérales et basales des choanocytes présentent parfois quelques ondu-
lations qui peuvent favoriser leur maintien en place. Nous considé-
rons cependant ces éléments, selon l'expression de POLICARD,
" non comme des soudures mais comme des dispositifs de solidarité".
Nous attachons beaucoup plus d'importance à la présence de desmo-
somes très simples dont les tonofibrilles sont courtes et souvent diffi-
ciles à déceler.

Les fibres de collagène entourant les corbeilles se disposent
parallèlement à la base des choanocytes (Pl. I A) et sont en géné-
ral dans le sillage de lophocytes qui peuvent demeurer étirés dans la
même position.

Le noyau choanocytaire (Pl. I A et B), sphérique ou légè-
rement ovoïde, mesure en moyenne $1,9 \mu$ (max.: $2,8 \mu$; min.: $1,2 \mu$).
La microscopie électronique montre qu'il est rarement nucléolé mais
il possède souvent un ou plusieurs caryosomes. La chromatine peut
en outre former une couronne périphérique assez épaisse.

Le cytoplasme est bourré de petites vacuoles subsphériques
de 50 à 500μ , à contenu peu osmiophile. La plupart sont claires,
sauf à la périphérie qui présente un halo dense, parfois souligné par
la présence de grains. Certaines viennent se crever au niveau de la
membrane latérale et contribuent peut-être à élaborer la mince pellicu-
le de substance encore mal connue qui sépare les cellules. A proxi-
mité de l'appareil de Golgi, beaucoup de ces vacuoles se confondent
avec les vésicules golgiennes qui se séparent latéralement. Des va-
cuoles plus grandes, principalement situées vers la base et décelées
en microscopie photonique en raison de leur taille ont un contenu fi-

brillaire ou à structure complexe (Pl. I B) . Certaines formations rappellent même les éléments minéraux contenus dans les scléroblastes . Leur taille oscille entre 0,5 et 1,8 μ . On peut enfin trouver dans les choanocytes de petites sphérules finement granuleuses de 0,3 à 1 μ .

L'appareil de Golgi (parabasal de certains auteurs) est situé dans la région apicale de la cellule, à proximité du corpuscule basal du flagelle . Sa structure tout à fait classique présente une pile de saccules aplatis, de 600 m μ de diamètre, bourgeonnant des vésicules à la périphérie . Bien que des clichés trop peu nombreux ne nous permettent pas encore d'être absolument affirmatifs, nous pensons qu'il y a un lien entre l'appareil de Golgi et le corpuscule basal . Ce lien, représenté chez les Eponges calcaires par DUBOSCQ et TUZET sous forme d'un filament, est matérialisé en microscopie électronique par une traînée osmiophile allant du parabasal à l'intérieur du cinétosome (Pl. I E) . La moelle de ce dernier est beaucoup plus sombre que le cytoplasme environnant .

La taille des mitochondries ovoïdes varie entre 200 et 500 m μ . L'ergastoplasme est assez réduit : les ribosomes forment une assise périnucléaire continue et entourent quelques vésicules dispersées dans le cytoplasme .

Le flagelle, de structure classique, est formé d'un axe fibrillaire de 150 m μ de diamètre (dimension qui paraît assez constante chez les Eponges) entouré d'une gaine cytoplasmique . Celle-ci n'est pas un fourreau cylindrique régulier moulant le faisceau de fibrilles mais elle présente des ondulations qui donnent aux coupes perpendiculaires à l'axe, des aspects variables . Certaines montrent ainsi deux prolongements en ailettes, diamétralement opposés, qui rappellent les figures observées par RASMONT chez Ephydatia .

De tels aspects étant chez Tethya tout à fait occasionnels et liés à l'irrégularité de la gaine cytoplasmique, nous sommes obligés de souligner la différence existant entre les deux types de flagelles . Cette différence est encore accentuée par l'existence, chez les Spongillides, de deux appendices en forme d'ailes aplaties (" breitflügelige Anhänge ") décrits par FEIGE en 1966 . Des formations identiques n'ont jamais été retrouvées sur notre matériel .

La collerette se compose de 22 expansions cytoplasmiques (min.: 16 ; max.: 27) dont le diamètre varie de façon irrégulière de la base au sommet (diamètre moyen : 110 μ) et qui contiennent de petites vacuoles semblables à celles du corps cellulaire . Ce nombre est bien inférieur à celui des choanocytes d'Ephydatia (environ 40 villosités) et plus proche de celui d'Oscarella . Chaque tubule cytoplasmique est entouré d'un prolongement de la membrane cellulaire plus osmiophile que le centre . De fines expansions (Pl. I C), probablement homologues des microfibrilles décrites par FJERDINGSTAD paraissent favoriser l'adhésion des villosités les unes aux autres, surtout à la base . Elles doivent servir de support à une substance mucoïde signalée par plusieurs auteurs à la base de la collerette et autour du flagelle dans sa partie inférieure . Lorsque cette substance est abondante, les villosités demeurent unies les unes aux autres et il est tout à fait normal que certains histologistes aient interprété le cylindre ainsi formé comme une lame continue .

Le blépharoplaste ou corpuscule basal (Pl. I D) est un tube osmiophile de 220 μ de long sur 160 μ de diamètre . Il n'est pas absolument cylindrique mais légèrement renflé en tonnelet et formé, comme tout cinétosome de 9 triplets de tubules disposés obliquement par rapport à un cercle . A un certain niveau, ces triplets ont des liaisons entre eux (fait déjà signalé chez des Ciliés) ce qui ma-

térialise le cercle précédent sous forme d'un anneau osmiophile .

Nous avons observé sur quelques clichés des fibres divergeant, à partir du corpuscule basal, dans le cytoplasme environnant et qui pourraient être interprétées comme des racines ciliaires . Ces formations n'ayant été décelées que dans deux séries de blocs et pouvant donc découler d'un défaut de fixation, nous devons toutefois émettre des réserves sur leur nature exacte .

C - Lophocytes (Fig. 2 B et Pl. III C) .

Nous serons très brefs sur cette catégorie cellulaire qui a fait l'objet de plusieurs analyses en microscopie photonique et électronique . On admet généralement, après les travaux de TUZET, PARIS, PAVANS DE CECCATTY et THINEY (1957-1964), que le collagène de Tethya lyncurium, comme celui d'autres Eponges, est élaboré par des cellules d'un type particulier, les lophocytes ou fibroblastes en déplacement . Comme PARIS, nous les avons vu évoluer au cours de leur migration, surtout dans l'écorce où ils sont très nombreux . Nous aurons l'occasion de voir, en étudiant le bourgeonnement, qu'ils dérivent des archaeocytes avec lesquels on les confond souvent, lorsque ceux-ci participent à la fibrogenèse . Ils peuvent, en effet, présenter en début d'évolution, l'aspect d'un gros amœbocyte de 25 μ de long suivi d'un énorme panache fibrillaire et posséder un noyau nucléolé de 4 μ de diamètre . Leur cytoplasme est bourré de granulations de 0,5 à 1 μ qui participent, comme la membrane cellulaire, à la fibrogenèse (PAVANS DE CECCATTY et THINEY, 1964) . Laissant peu à peu derrière eux et sur leurs côtés les faisceaux de fibrilles, ils diminuent de volume, s'allongent et perdent leurs granulations . On arrive ainsi aux formes typiques, plus ou moins en fuseau, qui ne peuvent être confondues avec les

archaeocytes et constituent une population cellulaire bien individualisée. Les lophocytes s'étirent souvent au sein du collagène et leur noyau subit alors des déformations parallèles (certains noyaux oblongs mesurent 7,5 sur 1,5 μ) .

Le terme de lophocyte évoquant une activité fibrogénétique très importante, au cours des divers phénomènes de la morphogenèse, sera utilisé de préférence à celui de collencyte employé par certains auteurs pour désigner le même type de cellule .

D - Collencytes (Fig. 2 C) .

Nous réservons cette seconde dénomination à des éléments fixes ou peu mobiles de la trame mésenchymateuse qui représentent, semble-t-il, le terme ultime d'une évolution cellulaire . La cellule très étirée, à noyau oblong et à cytoplasme privé de ses inclusions, à laquelle nous avons fait allusion ci-dessus, peut entrer dans la catégorie des collencytes . Il en est de même de certains éléments dont le corps cellulaire réduit pousse de fins prolongements dans plusieurs directions de l'espace . Leur noyau à peu près sphérique (2,25 μ de diamètre) ne possède pas de nucléole mais quelques grains de chromatine . Des granulations éparses peuvent exister dans le cytoplasme qui ressemble beaucoup à celui des pinacocytes .

Si les collencytes ne forment pas chez Tethya un véritable réseau de type conjonctif, les prolongements de plusieurs cellules peuvent entrer en rapport d'une manière assez lâche pour ébaucher par endroits une sorte de réticulum .

E - Polyblastes (Fig. 3 A et Pl. II A et B) .

Le terme de polyblaste adopté par TUZET et PAVANS DE CECCATTY (1955) pour désigner un carrefour de la dynamique cellulaire s'applique à un élément ayant gardé ou retrouvé les caractères d'une cellule embryonnaire et possédant, en particulier, un haut pouvoir de synthèse protéique . Les auteurs précédents ont établi chez Halisarca une homologie entre l'amoebocyte hyalin et le polyblaste . Nous utiliserons ce dernier vocable chez Tethya pour désigner des amoebocytes dont le rapport nucléoplasmatique est élevé et le nucléole important . On rencontre ces cellules à tous les niveaux mais surtout dans la zone médullaire . Grossièrement sphérique ou plus ou moins déformé par ses déplacements, le polyblaste a un cytoplasme clair avec peu d'inclusions et de nombreuses petites vacuoles . Sa taille ne dépasse pas 7 à 8 μ , le diamètre de son noyau atteignant facilement 3 à 4,5 μ . L'appareil de Golgi, très développé, est formé de plusieurs dictyosomes appliqués contre le noyau . Les saccules qui les constituent détachent latéralement de petites vésicules . Nous avons souvent observé dans les polyblastes et les archaeocytes des corps multivésiculaires de 500 à 600 $m\mu$ dont l'origine ne peut être encore déterminée avec certitude . Deux hypothèses sont à envisager :
.ou bien ces éléments dérivent de mitochondries tubuleuses dégradées,
.ou bien ils proviennent de l'isolement par une membrane d'une portion cytoplasmique riche en vésicules golgiennes .

De nombreuses figures nous permettent de considérer cette deuxième éventualité comme la plus probable mais seule une étude d'histochimie ultrastructurale nous permettra de trancher ce problème et de connaître le rôle exact des corps multivésiculaires . Les grains de ribosomes très nombreux sont le plus souvent associés à des membranes ergastoplasmiques ou à des cisternae du réticulum endoplasmique .

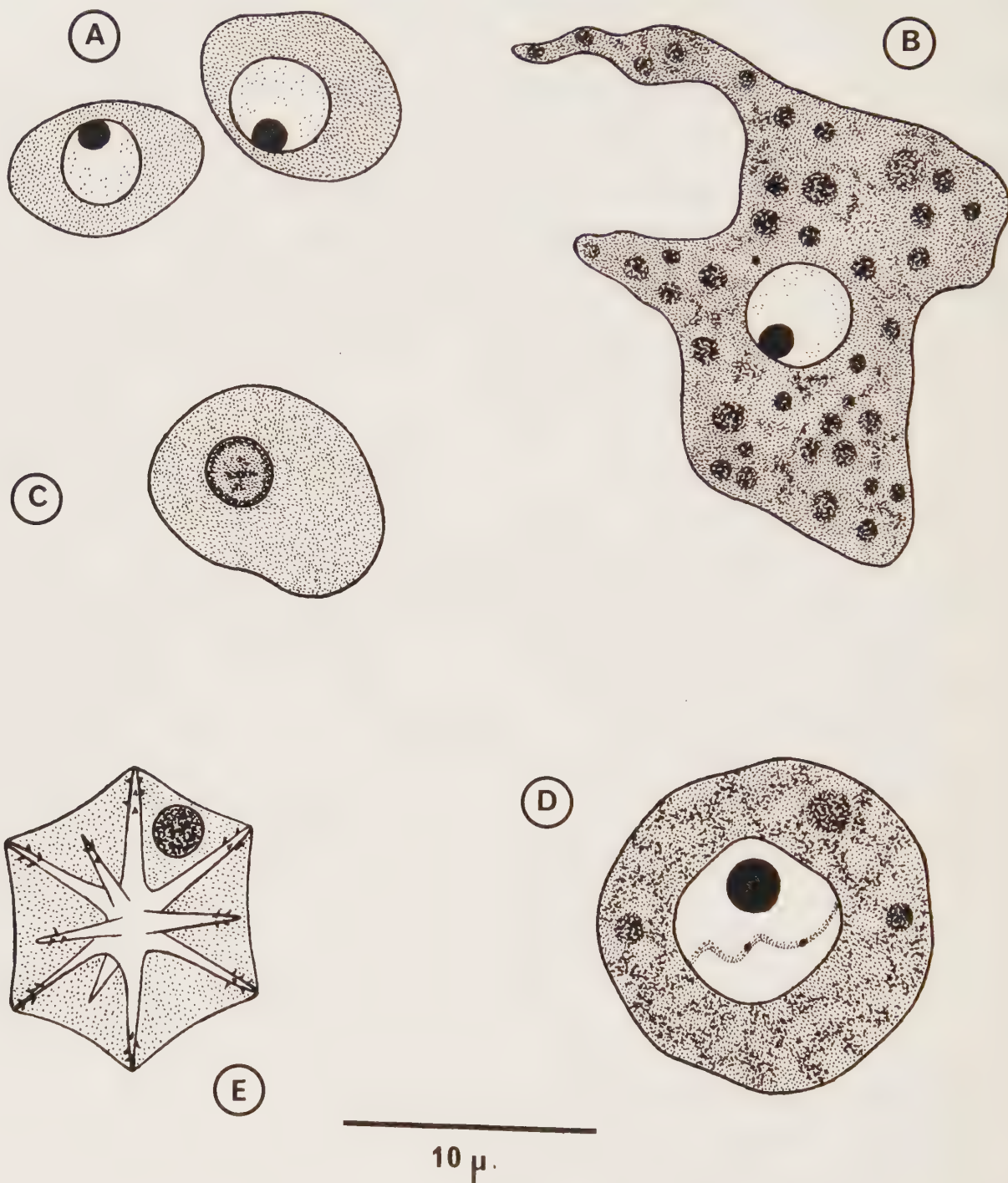


FIGURE 3. A. Polyblastes. B. Archaeocyte. C. Amoebocyte s.s. D. Ovocyte. E. Cellule-mère de strongylaster.

F - Archaeocytes (Fig. 3 B et Pl. III A et B, IV et V) .

Ces cellules à potentialités multiples, maintes fois décrites dans les travaux sur le mésenchyme, la régénération et la reproduction asexuée, se caractérisent par leur richesse en inclusions cytoplasmiques, pour la plupart d'origine phagocytaire . Dans son travail sur les greffes d'Eponges, PARIS (1960) assimile l'archaeocyte de Tethya au polyblaste, réservant à ce dernier le terme d'amœbocyte hyalin . Nous préférons personnellement séparer ces deux catégories de cellules, le polyblaste étant avant tout un carrefour de la dynamique cellulaire et le stade de jeunesse de l'archaeocyte . Ce dernier, dont le rapport nucléoplasmatique est souvent assez faible et le cytoplasme chargé d'inclusions, manifeste une activité particulière que ne connaît pas le polyblaste . Nous aurons l'occasion de voir qu'il participe activement à la fibrogenèse et peut engendrer différentes catégories cellulaires .

La proportion des archaeocytes chez Tethya varie considérablement avec l'état physiologique de l'Eponge et n'exprime pas un caractère spécifique .

En microscopie photonique, l'archaeocyte se présente comme une grosse cellule de forme variable, résultat de ses déplacements fréquents et il devient ainsi superflu de fournir des dimensions qui changent d'un élément à l'autre suivant les déformations subies . Beaucoup plus caractéristique est la taille du noyau (3,5 à 5 μ), sphérique ou ovoïde, clair et possédant un gros nucléole (1 μ) excentrique, le plus souvent plaqué contre la membrane nucléaire . Celle-ci est fortement colorable, comme l'a constaté FAURE-FREMIET chez Ficulina ficus, parce que doublée d'une mince couche de chromatine périphérique . Le cytoplasme est bourré de granulations de 0,5 à

1,5 μ , parfois davantage, dont les réactions colorées très variables traduisent une composition chimique non constante . Certaines sont P.A.S. positives, ce qui pourrait indiquer la présence de polysaccharides, d'autres manifestent une légère affinité pour la fuchsine dans la réaction de Feulgen .

La microscopie électronique confirme et précise les observations précédentes . Le noyau est entouré sur une grande partie de sa surface par un appareil de Golgi formé de plusieurs dictyosomes . Comme celle des polyblastes, la membrane nucléaire est percée de pores établissant des relations avec le cytoplasme . Le nucléole est finement granuleux, les mitochondries et les ribosomes sont abondants.

Les granulations du cytoplasme correspondent pour la plupart à des corps phagocytés, fragments cellulaires ou même cellules entières dans certaines conditions . On peut voir des archaeocytes entourer de leurs pseudopodes un élément quelconque prélevé dans la mésoglée (Pl. III A) et l'inclure progressivement dans une vacuole où il sera transformé . La taille moyenne de ces phagosomes, calculée à partir de plusieurs centaines de mesures est de 0,9 μ mais l'amplitude des variations est très grande . Si l'on peut admettre, pour l'avoir maintes fois observée, l'origine phagocytaire de la plupart de ces éléments, il est encore difficile de suivre les étapes de leur transformation . Certains ont un aspect compact et une forte osmiophilie, d'autres une structure complexe à base de vésicules et de membranes disposées sans ordre, d'autres enfin, une partie granuleuse et une zone à lamelles concentriques . Les figures myéliniques ne sont pas rares, de même que les inclusions fibrillaires . On peut encore trouver dans les archaeocytes des vacuoles remplies d'une substance finement granuleuse, assez opaque aux électrons, rappelant les globules des cellules sphéruleuses .

Il est probable que les corps phagocytés subissent, à l'intérieur du cytoplasme, une dégradation enzymatique donnant naissance à plusieurs types de substances élémentaires . Certaines servent immédiatement à de nouvelles synthèses (du collagène en particulier), d'autres n'interviennent que dans des conditions métaboliques spéciales . Elles doivent entrer en ligne de compte lorsque l'Eponge ne peut plus assurer son fonctionnement normal sur le plan nutritif par suite d'une désintégration de son système aquifère ou de l'absence de ce dernier (embryogenèse somatique, bourgeonnement) . Une fraction des phagosomes est sans aucun doute le support de pigment car les archaeocytes sont les principaux responsables de la couleur de Tethya . Le même type de pigmentation tirant son origine du même type d'évolution cellulaire, se retrouve dans certains oeufs comme ceux de Polymastia (BOROJEVIC 1967) . Chez Ophlitaspongia, BOROJEVIC et LEVI (1964) ont établi un parallèle entre la vitellogenèse et l'acquisition de réserves par les archaeocytes dans des circonstances particulières .

La question des phagosomes, comme celle des nombreux corps énigmatiques décrits sous des noms divers dans les cellules animales ne pourra être résolue que par le perfectionnement de l'histo-
tochimie ultrastructurale . Nous sommes encore obligés de rester très réservés à leur égard et nous contenter de fournir quelques images de leurs principaux aspects (Pl. V) .

Pour que l'archaeocyte puisse continuer à survivre et à jouer son rôle de cellule à potentialités multiples, il faut que les éléments hébergés par son cytoplasme n'entraînent pas sa nécrose en se dégradant . Cela se produit dans certains cas, à la suite d'une phagocytose trop active (cf. reconstitution à partir de cellules dissociées) . On pourrait alors reprendre l'expression de POLICARD

au sujet des lysosomes et dire que les phagosomes peuvent être les " valises de suicide " des cellules .

G - Amœbocytes s. s. (Fig. 3 C et Pl. II C) .

Nous avons groupé sous le terme d'amœbocytes au sens strict un ensemble de cellules de taille variable mais assez réduite (8 à 12 μ), à cytoplasme clair, à rapport nucléoplasmatique assez faible . Leur noyau non nucléolé possède une chromatine diffuse ou réticulée . On les trouve dans la zone médullaire, à proximité des corbeilles et aussi en migration dans l'écorce . L'appareil de Golgi est moins développé que dans un polyblaste ou un archaeocyte, les mitochondries sont aussi nombreuses mais les ribosomes sont rares . La nature de leur cytoplasme mériterait qu'on leur appliquât le qualificatif d'hyalin mais ce dernier allant de pair, pour la plupart des auteurs, avec la présence d'un nucléole et la fonction polygénératrice, nous parlerons simplement d'amœbocytes .

H - Cellules sphéruleuses ou amœbocytes sphéruleux (Fig. 4 et Pl. VI et VII) .

Nous rangeons dans cette catégorie un certain nombre d'éléments, facilement reconnaissables sur une préparation histologique ou sur le vivant, qui correspondent à un stade précis de toute une évolution cellulaire . On les trouve aussi bien chez les adultes que chez les bourgeons, en plus grande abondance dans le cortex que dans la moelle . Ils sont souvent groupés en amas visibles à l'oeil nu, près de la surface de l'Eponge et dans les verrucosités . La taille de ces sortes de " morulas " peut atteindre 300 à 400 μ et leur périphérie est limitée, dans certains cas, par des lophocytes en fin d'évolution et

des pinacocytes . Au maximum de complexité une capsule fibreuse d'origine lophocytaire entoure ces groupements . Certains auteurs ont ainsi pensé que de telles formations correspondaient à des gemmules .

En microscopie photonique, ces amœbocytes apparaissent bourrés de grosses sphérules, le plus souvent ovoïdes, comprimant le noyau et réduisant le cytoplasme à sa plus simple expression . Le rapport nucléo-plasmatique est faible : le diamètre des cellules atteint en effet 15 à 20 μ alors que celui du noyau ne dépasse jamais 3 μ et oscille en général autour de 1,5 à 2 μ . Ce dernier peut posséder un nucléole mais il n'a jamais l'aspect actif du noyau d'archaeocyte .

Les sphérules intracytoplasmiques, compactes, finement granuleuses ou complètement claires, ont des tailles comprises entre 0,5 et 3,5 μ . Leurs affinités pour les colorants sont très variables et KOLLMANN a parlé à leur sujet d'hétérochromasie . Elles ont en réalité des structures et des compositions différentes comme l'a confirmé la microscopie électronique . Une ou deux d'entre elles, de plus grande taille, n'ont jamais la même couleur que les autres dans une réaction donnée : elles prennent une teinte noir-intense avec l'hématoxyline d'Heidenhain malgré une régression poussée à l'alun de fer ; la phloxine les colore en rose vif et l'éosine en rose . Elles ont une légère affinité pour la fuchsine dans la coloration de Feulgen et la réaction au P.A.S. Comme l'a déjà noté CHERFILS, les techniques classiques d'histochimie ne permettent pas de détecter leur nature exacte . Les grandes inclusions ne possèdent souvent qu'une ou deux calottes basophiles entourant un élément acidophile ce qui donne l'impression que la sphérule éclate en libérant un corps n'ayant pas les mêmes affinités chromatiques (Fig. 4 B) . A l'intérieur des amas corticaux, les cellules sont très serrées et les membranes pas toujours visibles . Ceci explique la confusion fréquente avec des syncytium .

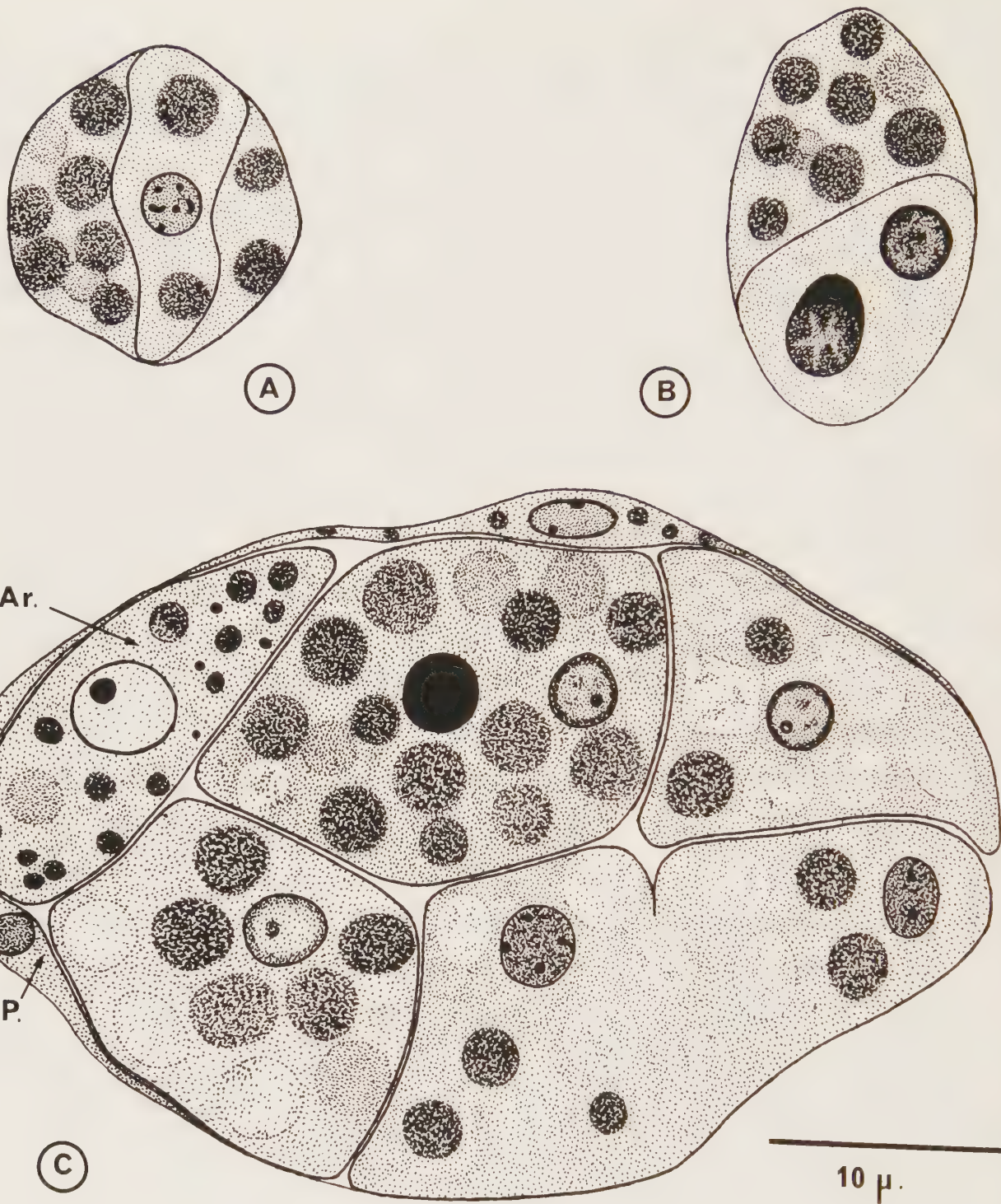


FIGURE 4. A, B. Clivage d'un amœbocyte sphéruleux avec abandon d'une partie du cytoplasme. C. Groupement cortical de quelques amœbocytes sphéruleux et d'un archaeocyte. Ebauche d'assise pinacocytaire périphérique.
Ar. : archaeocyte - P. : pinacocyte.

Lorsque les sphérules se dégradent, l'amoebocyte se vacuolise et devient clair . La dégénérescence d'une cellule peut entraîner la formation d'une vésicule dont la lumière n'est occupée le plus souvent que par quelques débris .

Si de telles vésicules sont rapprochées, il se forme une sorte de tissu alvéolaire rappelant à première vue le cartilage . De minces cloisons de nature collagène, dont la synthèse revient sans nul doute aux cellules sphéruleuses, délimitent de petites cavités régulières correspondant aux corps cellulaires dégénérescents . Dans la plupart des alvéoles, une sphérule sidérophile ou un noyau pycnotique accentuent la ressemblance avec le tissu cartilagineux . Ce type de formation du squelette organique dans la région superficielle de l'écorce mérite d'être mentionné car il peut l'emporter à ce niveau sur le processus classique à partir des lophocytes . Il est à rapprocher de certaines images données par EBERL-ROTHE (1960) dans son étude sur la substance interstitielle des Eponges et qualifiées par cet auteur de " production gaufrée " (" Wabenwerk ") .

Les cellules isolées peuvent aussi se désintégrer en libérant leurs sphérules dans le cytoplasme environnant . Ce phénomène, connu sous le nom de clasmatose, n'est pas de règle mais se produit occasionnellement .

La microscopie électronique permet de confirmer les observations précédentes et de mieux comprendre certaines structures . Les mensurations effectuées sur une vingtaine de cellules sont plus précises en raison des forts grossissements et nous amènent à fournir les chiffres suivants :

- cellule : 13 sur 7,4 μ (max.: 16,1 sur 8,6 μ ; min.: 9,8 sur 5,8 μ) .

- noyau : 2,6 sur 1,9 μ (max.: 3,1 sur 2,4 μ ; min.: 1,9 μ) .
- sphérules osmiophiles : 2,8 sur 2,2 μ (max.: 4,9 sur 3,6 μ ; min.: 1,2 μ) .
- vacuoles : 2,1 sur 1,7 μ (max.: 2,8 sur 2,5 μ ; min.: 0,9 μ) .

Le cytoplasme est très réduit à cause du grand développement des vacuoles et des sphérules . On l'aperçoit parfois entre ces dernières mais il est surtout limité à une zone périnucléaire rejetée à la périphérie, comme le noyau qui est toujours excentrique . Les mitochondries sont petites et abondantes, l'appareil de Golgi souvent très beau, les vacuoles du réticulum endoplasmique peu nombreuses . Quand le noyau n'a pas dégénéré, il peut se séparer, avec le cytoplasme qui l'entoure, du complexe vacuolaire et sphéruleux . Il redonne alors une petite cellule qui entre à nouveau dans le cycle (nous reviendrons sur ce fait en étudiant le développement du bourgeon) .

La membrane cellulaire est nette ou dégradée par suite de sa participation à la fibrogenèse .

Le noyau est petit, rarement ovoïde ou sphérique . Il est en général déformé par les pressions des sphérules ou des vacuoles environnantes et peut s'inscrire dans un carré ou un rectangle . Il présente souvent des signes de dégénérescence . La chromatine se condense à la périphérie contre la membrane nucléaire, en plusieurs caryosomes ou en une masse irrégulière à proximité du nucléole . Ce dernier subit de profonds changements conduisant à sa disparition : des secteurs faiblement opaques aux électrons apparaissent en un ou deux points de sa surface, grandissent et ainsi est peu à peu "digérée" la substance nucléolaire . Il arrive que le nucléole bourgeonne ou se divise avant de dégénérer .

Les sphérules denses et osmiophiles, contenues dans des

vacuoles qu'elles distendent, ne sont jamais plus de deux ou trois par cellule, généralement à proximité du noyau . Elles sont initialement très compactes, ne laissant pas passer les électrons (Pl. VI C) . Si elles ne sont pas libérées par l'éclatement de la cellule qui les contient, elles sont peu à peu digérées, in situ, pour laisser finalement à leur place une vacuole . Leur dégradation est marquée par un éclaircissement progressif, généralisé ou localisé . Dans le deuxième cas, on observe les fameuses figures visibles en microscopie photonique de sphérules ayant une partie centrale plus ou moins étoilée et claire ou une calotte osmiophile coiffant une partie plus claire (Pl. VII B et F) . Un nodule sombre entouré de fibrilles persiste pendant un certain temps au centre de la vacuole, marquant une des dernières étapes de la disparition (Pl. VII D) .

Les nombreuses vacuoles comprimées les unes sur les autres se déforment réciproquement et il en résulte souvent des interpénétrations assez poussées . Le contenu vacuolaire est rarement clair ; on y rencontre le plus souvent une accumulation irrégulière de filaments ayant une périodicité nettement visible et parfois même des structures cristallines (Pl. VII E et G) . Il y a en moyenne 18 vacuoles par cellule ; ce nombre peut être inférieur, mais nous en avons compté jusqu'à 26 sur une coupe .

Les cellules sphéruleuses peuvent, en outre, contenir quelques corps plus petits, limités par plusieurs membranes concentriques rappelant des figures myéliniques (1 sur 0,9 μ , parfois moins) .

La plupart des auteurs qui se sont penchés avant nous sur l'histologie des Eponges ont décrit sous des noms différents des cellules sphéruleuses dont la diversité de forme et de structure justifiait en partie ces multiples dénominations . L'étude de leur origine et de leur rôle a fait couler beaucoup d'encre et a fait apparaître deux

interprétations principales, celle de cellule à réserves et celle de cellule sécrétrice ou excrétrice . Chez Tethya lyncurium, TOPSENT (1900) considère les amas de cellules sphéruleuses du cortex comme des éléments " embryonnaires " destinés à produire des bourgeons ou des gemmules externes, donc comme des archaeocytes . Cette hypothèse qui n'a été reprise par aucun auteur doit être rejetée, car les cellules sphéruleuses sont incapables de redonner toutes les catégories cellulaires . La seule chose que l'on puisse affirmer est que la cellule sphéruleuse n'est pas irrémédiablement vouée à la dégénérescence et à la mort . Elle peut, au contraire, se débarrasser de ses inclusions et redonner un amœbocyte entrant à nouveau dans le cycle .

Pour COTTE (1903), les cellules sphéruleuses de Reniera et de quelques autres espèces sont des formations glandulaires et les globules qu'elles renferment sont des produits de sécrétion . La fragmentation des cellules en plein tissu (clasmatose) permettrait aux éléments voisins d'utiliser pour leur nutrition les produits libérés mais ces derniers pourraient être rejetés en bloc . Cette hypothèse beaucoup plus vraisemblable que la précédente a été reprise par LEVI (1956) pour Halisarca et par VACELET (1967) pour Verongia cavernicola . Ayant observé au sein de la substance fondamentale de Tethya, des phénomènes de désintégration des cellules sphéruleuses, isolées ou en amas, nous ne pouvons repousser cette interprétation. Nous n'avons cependant jamais vu de tels amœbocytes expulsés dans les canaux et la majorité des inclusions libérées semblent être utilisées pour la synthèse du collagène . Que le processus de participation à cette synthèse soit celui suggéré par DE CECCATTY et THINEY (1964) ou que le phénomène soit beaucoup plus complexe, il n'en demeure pas moins que les produits libérés par les sphérules sont récupérés par l'Eponge pour son métabolisme . Ce ne sont pas, à

notre avis, de simples produits d'excrétion mais plutôt des réserves au sens large, sans limiter ce terme aux formations classiques de type vitellin . Nous éviterons pour cette raison toute homologie avec les thésocytes qui sont d'authentiques cellules de réserve et dont LIACI (1963) a repris la description chez Aaptos aaptos .

Toutes les cellules ne subissant pas la clasmatose, il est fort possible que les produits de dégradation des sphérules passent insensiblement dans la substance interstitielle environnante, à travers la mince couche de cytoplasme et la membrane .

I - Cellules grises (Pl. VIII A et B) .

Certains amœbocytes, plus fréquents dans les bourgeons que chez l'adulte où ils sont très disséminés, rappellent par plusieurs caractères les cellules grises de beaucoup d'Eponges

Ce sont de petits éléments de 7,4 sur 3,5 μ (max.: 9,3 - 3,6 μ ; min. 7,8 - 1,9 μ) dont le corps est bourré d'inclusions contenues dans des vacuoles . Ces vacuoles n'ont aucune parenté avec celles des choanocytes et sont beaucoup plus petites que celles des amœbocytes . On en compte environ 25 par cellule ; leur taille est de l'ordre de 500 m μ (variations entre 230 et 760 m μ) . Certaines sont remplies d'un produit dense, finement granuleux, opaque aux électrons, rappelant les globules compacts des cellules sphéruleuses . D'autres sont complètement claires ou contiennent un reliquat de la substance qui les remplissait initialement, sous forme de quelques grains très osmiophiles . Le cytoplasme intravacuolaire héberge des granulations caractéristiques correspondant à du glycogène (Pl. VIII A) .

Le noyau de taille réduite (2,2 μ), sphérique et toujours

dépourvu de nucléole, possède de la chromatine en réseau . L'appareil de Golgi est plaqué contre lui . Les mitochondries de 300 à 500 mμ sont disséminées entre les vacuoles . La fraction cytoplasmique dépourvue d'inclusions est restreinte .

Ces cellules peuvent migrer dans la mésoglée et sont souvent étirées dans le sens des faisceaux de fibres (Pl. VIII B) .

L'association, plusieurs fois mentionnée chez les Eponges, de glycogène et d'une substance osmiophile de nature encore indéterminée (pigment ou substance de réserve) permet d'assimiler ces éléments aux cellules grises des auteurs . Bien que ne possédant pas de nucléole, elles rappellent par leur taille et l'aspect des inclusions en microscopie photonique, les " cellules granuleuses à petites granulations " décrites par TUZET (1932) chez Reniera . Malgré une taille inférieure, elles sont très proches des " gray cells " de Microciona (SIMPSON 1963), déjà décelées par WILSON et PENNEY en 1930 . Notons enfin qu'elles ne présentent pas de différence fondamentale (si ce n'est dans la grosseur des inclusions), avec les cellules grises d'Ophlitaspongia seriata (BOROJEVIC et LEVI 1964) ou de Verongia cavernicola (VACELET 1967) .

Sans entrer dans le détail d'autres homologues avec des éléments proches parents décrits par MEEWIS (1936) chez Spongilla et Ephydatia, par FAURE-FREMIET (1932) chez Ficulina, nous pouvons affirmer que ce type de cellule est assez constant bien qu'en faible proportion, dans la lignée des Eponges siliceuses . Sa fréquence relative dans les bourgeons permet de le considérer comme un élément de réserve .

J - Cellules microgranulaires (Pl. VIII C) .

Nous n'avons jamais repéré les cellules microgranulaires en microscopie photonique, à cause de la petite taille de leurs inclusions et de leur forme souvent étirée qui permet de les confondre avec des collencytes . Le noyau anucléolé (1,5 à 2 μ) renforce d'ailleurs cette ressemblance . Ce sont des éléments très rares dont le cytoplasme est rempli de petites granulations, aussi bien au niveau du corps cellulaire que de ses fins prolongements . Ces inclusions en forme de bâtonnets, généralement renflés en haltères aux deux extrémités, ont une longueur moyenne de 120 $\mu\mu$, la largeur ne dépassant pas 35 $\mu\mu$. Ces cellules mesurent 10 à 11 μ sur 2,5 à 4 μ . La taille des mitochondries oscille autour de 300 $\mu\mu$ (max.: 350 $\mu\mu$; min.: 200 $\mu\mu$) .

K - Scléroblastes (Fig. 3 E et Pl. IX) .

Le squelette minéral de Tethya lyncurium comporte trois types de spicules qui ont reçu des noms différents de la part des systématiciens . Les plus nombreux et les plus grands sont des éléments allongés avec une extrémité en pointe et l'autre arrondie . Ce sont les "stabsadeln" de MAAS, les strongyloxes de TOPSENT, CHERFELS, SARA et PARIS, les styles et subtylostyles de ARNDT. Leur longueur oscille entre 150 et 2500 μ , leur épaisseur entre 7 et 35 μ . Une deuxième catégorie à laquelle tous les auteurs ont donné le même nom correspond aux sphérasters, spicules hérissés d'épines, dont le diamètre total varie de 15 à 120 μ . Viennent enfin les petites étoiles de la périphérie et du pourtour des lacunes dont la taille ne dépasse pas 20 μ . TOPSENT, MAAS et CHERFELS les qualifient de chiasters, ARNDT de strongylasters, SARA et coll. de micrasters . La faune de ARNDT étant à notre connaissance la plus

récente et peut-être la plus utilisée à l'heure actuelle, nous adopterons sa terminologie au cours de notre travail .

Sur le plan histologique, seuls nous intéressent ici les scléroblastes :

- les cellules-mères de strongylasters (10 à 15 μ de diamètre) sont fréquentes à la périphérie de l'Eponge au-dessous de la couche d'exopinacocytes ainsi qu'autour des lacunes et des canaux, renforçant la bordure endopinacocytaire . Leur cytoplasme est clair, leur noyau (1,5 à 2 μ) déporté latéralement, présente un aspect uniforme . Lorsque le spicule est petit, sa cellule-mère subsphérique contient souvent quelques granulations . En grandissant, il exerce sur la membrane cellulaire une forte distension qui confère au scléroblaste, en coupe, l'aspect d'un polygone curviligne (Fig. 3 E) . Arrive enfin un stade où les branches de l'étoile sortent de la cellule qui régresse peu à peu .

En microscopie électronique, le cytoplasme apparaît clair, avec de nombreuses vacuoles et un grand nombre de mitochondries . Quelques vacuoles remplies d'un contenu granulaire sont souvent situées entre les branches de l'aster . Une seule cellule suffit à former un de ces spicules .

- les cellules-mères de sphérasters, plus difficiles à observer parce que moins nombreuses, ont une taille voisine des précédentes . Les caractères cytoplasmiques sont semblables mais le noyau peut être nucléolé . L'intervention d'autres cellules est nécessaire à la croissance ultérieure du spicule qui présente des couches concentriques de silice .

- les cellules-mères de styles sont difficiles à repérer . On voit très bien, par contre, les éléments granuleux qui s'appliquent contre le

spicule pour assurer sa croissance par apposition de silice .

L - Cellules germinales (Fig. 3 D) .

Nous n'avons jamais rencontré de spermatozoïdes dans les nombreux individus coupés en différentes périodes de l'année mais il n'est pas rare, en revanche, de trouver des cellules femelles . La figure 3 D représente un ovocyte subsphérique de 13 μ de diamètre, avec un noyau central clair, de 6,5 μ , possédant un nucléole compact et volumineux (2 μ) . Le cytoplasme dense est déjà chargé, à ce stade, de substances de réserve . Les ovogonies, qui dérivent comme l'a montré LEVI (1956) de petits amoebocytes à rapport nucléoplasmatique élevé et les oeufs volumineux sont très abondants dans certains spécimens . Notons que ces oeufs, parfois amoéboïdes, ne possèdent jamais d'énormes pseudopodes comme ceux des Eponges calcaires .

M - Cellules de type nerveux ou musculaire .

Nous avons retrouvé en microscopie électronique des cellules à filaments internes rappelant beaucoup les éléments de type nerveux décrits par PAVANS DE CECCATTY (1966) chez la même Eponge . Ces cellules très spécialisées ne jouant qu'un rôle secondaire dans le cadre de notre travail, nous ne reviendrons pas sur leur structure et leur fonction (nerveuse ou musculaire) qui fait encore l'objet de nombreuses polémiques . Mentionnons toutefois l'abondance des cellules de type musculaire en certains points, autour des canaux du système aquifère où elles forment des sortes de sphincters .

C H A P I T R E I I

RECONSTITUTION D'INDIVIDUS A PARTIR DE FRAGMENTS

DU CORPS

I - HISTORIQUE

Depuis les premières observations de CAVOLINI, à la fin du XVIII^e siècle, la reconstitution d'Eponges à partir de fragments du corps d'individus adultes n'a cessé de passionner bon nombre de chercheurs . Poussés par la simple curiosité scientifique ou, le plus souvent par l'intérêt commercial de ce phénomène pour la propagation des Eponges de toilette, la plupart des auteurs n'ont fourni sur ce sujet que des données fragmentaires . Nous nous bornerons, dans l'historique de ce chapitre, à citer les principaux travaux ayant une importance sur le plan fondamental et s'appuyant, en général, sur une étude histologique .

Dans le groupe des Eponges calcaires, toutes les expériences sont récentes et reviennent, pour la plupart, à l'école russe de KOROTKOVA . JONES (1957) et KOROTKOVA (1961) obtiennent les premiers résultats avec des fragments de Leucosolenia complicata . Ce dernier auteur élargit son champ d'investigation à Leucosolenia variabilis, Sycon lingua, S. raphanus et S. ciliatum (1963) et complète ses observations sur S. lingua avec ses collaborateurs (1965). TUZET et PARIS effectuent en 1963 un travail du même genre sur S. raphanus .

Chez les Démosponges, c'est, semble-t-il, à VAILLANT (1869) que revient le titre de pionnier pour son étude expérimentale sur Tethya lyncurium . Cet auteur effectue une série d'expériences " dans le but d'éclairer les phénomènes relatifs à la vitalité des

tissus " et à la " réparation des pertes de substance " chez les Spongiaires . Il utilise, à cet effet, des fragments de Tethya comprenant, soit la substance corticale seule, soit la substance médullaire seule, soit les deux réunies et conclut ainsi :

- la substance médullaire peut reformer la substance corticale et réciproquement ;
- la vitalité et la contractilité de la substance corticale sont plus grandes que celles de la substance médullaire ;
- le cortex peut pousser des prolongements pour refixer l'Eponge détachée . Un faible nombre d'expériences ont permis d'aboutir à ces résultats . VAILLANT note, en outre, que l'Eponge étudiée ne peut vivre longtemps en captivité .

.. WELTNER (1893), ALLEMAND (1906), COTTE (1907), MULLER (1911), Van TRIGHT (1912) font des essais de fragmentation chez les Spongillides ou les Eponges commerciales .

MAAS (1910) pratique des opérations identiques à celles de VAILLANT, sur un matériel possédant, comme Tethya, une écorce et un parenchyme médullaire faciles à séparer : Chondrosia reniformis . Son étude histologique précisée par des travaux ultérieurs comme celui de PAVANS DE CECCATTY sur les lophocytes, confirme l'existence d'une certaine parenté entre ces deux Spongiaires . Les résultats de MAAS sont les suivants :

- des fragments d'écorce et de moelle redonnent rapidement une Eponge normale, par enroulement du cortex autour du tissu médullaire, sans néoformation corticale ;
- des fragments de moelle reforment leur cortex par migration de cellules corticales contenues au sein des tissus médullaires . Là encore pas de néoformation ;
- des fragments de cortex dégénèrent rapidement .

Plus près de nous, BURTON (1933, 1949) décrit la fragmentation chez certaines Eponges marines, en particulier chez Halichondria bowerbanki . DE LAUBENFELS (1936) obtient de nouveaux individus à partir de morceaux d'Haliclona . KOROTKOVA et ses collaborateurs (1960, 1962) effectuent sur les Eponges d'eau douce et sur Halichondria panicea des opérations semblables à celles pratiquées sur les Calcaires .

Ayant repris les expériences de VAILLANT dont les conclusions étaient résumées en une seule page, nous avons suivi les

processus morphologiques et histologiques de la reconstitution sur un grand nombre d'individus, ce qui nous a conduit à des résultats sensiblement différents . Nous envisagerons dans ce chapitre la cicatrisation, la régénération et la reconstitution d'une Eponge normale à partir d'un fragment du corps . Nous étudierons au passage la résistance de Tethya à des conditions de vie défavorables, ses variations, ainsi que certains phénomènes d'involution .

II - COMPORTEMENT DE DIFFERENTS TYPES DE FRAGMENTS DE TETHYA : ASPECT MACROSCOPIQUE DE LA REGENERATION .

Pour apporter une réponse aux problèmes que soulève la structure anatomique particulière de cette Eponge, dont la plus grande partie du mésenchyme s'est différenciée sous forme d'une écorce, nous avons placé dans un circuit d'eau de mer des fragments de diverses tailles comprenant :

- soit le cortex et la région médullaire réunis,
- soit le cortex seul,
- soit la zone médullaire seule .

Les différences de taille (moitié, quart, huitième, seizième de Tethya) entraînent une variation du comportement de l'écorce par rapport à la moelle et permettent de juger du rôle respectif de ces deux zones .

Pour partager l'Eponge en deux, son pôle apical étant occupé par la région osculaire, nous avons utilisé comme plan de section, tantôt un plan méridien, tantôt un plan équatorial . Dans le cas du partage en quatre, nous avons choisi deux plans méridiens perpendiculaires

entre eux ou un plan équatorial et un plan méridien .

A - Demi-Tethya

1°) Premières étapes : contraction, ébauche de cicatrisation, fermeture du cortex .

Si l'on ne tient pas compte des fragments morts dans les premiers jours, sans avoir ébauché la moindre cicatrisation, on peut dire que 90 p. 100 des demi-Tethya présentent au départ un comportement identique . Il est lié à la grande contractilité de cette Eponge, signalée à plusieurs reprises, en particulier par VAILLANT (1869), PAVANS DE CECCATTY, CARGOUIL et CORABOEUF (1961), PARIS (1961) . Quelques heures après la section en deux moitiés, chaque fragment se contracte . Cette réaction, très importante au niveau du cortex, a pour conséquence la saillie sous forme d'un cône de la zone médullaire . Le sommet du cône, dont l'angle est plus ou moins aigu selon l'état de contraction, est occupé par le point central de la Tethya, à partir duquel rayonnent les faisceaux de styles . Il faut en général plusieurs jours, à cause de la lenteur du phénomène, pour atteindre l'acuité maxima (Fig. 5 A et B) . La section de l'Eponge doit certainement freiner sa contraction, au départ . Il n'y a pas, en effet, une réaction aussi rapide que dans les cas de traumatismes plus faibles (piqûres dans les expériences de PAVANS DE CECCATTY, blessure pour l'introduction d'un greffon dans celles de PARIS) .

Pendant ce premier temps s'amorce la cicatrisation . Beaucoup de cellules, pour la plupart d'origine corticale, migrent vers les parties fraîchement coupées de la zone médullaire . Elles masquent peu à peu les faisceaux de spicules dénudés et forment une couche de quelques millimètres au-dessus d'eux . Des orifices irrégulièrement

disposés sont alors visibles sur cette surface de protection, assurant en partie la circulation de l'eau à l'intérieur de l'Eponge . Par suite de la mobilisation excessive des cellules de l'écorce, on assiste à une diminution d'importance de cette région . En même temps, la demi-Tethya reprend son état turgescent . La saillie conique diminue aussitôt .

Le cortex ayant subi des remaniements change d'épaisseur et d'aspect . Il ressemble davantage au tissu cicatriciel qui le remplace au niveau de la section . Les aspérités polygonales de sa surface disparaissent et celle-ci acquiert l'aspect du velours . Cette ressemblance vient en partie de la dénudation d'une multitude de spicules après disparition des cellules qui les enrobaient .

Nous n'avons jamais observé la collaboration de l'écorce initiale et du tissu cicatriciel pour former le cortex de la nouvelle Eponge . La région corticale prend, au contraire, un rôle prépondérant . Après avoir retrouvé sa turgescence, elle tend à se refermer à la manière d'une bourse, en englobant la partie médullaire qui s'invagine . Le rôle du tissu cicatriciel serait donc simplement de protéger la moelle et de recréer une physiologie à peu près normale, avant la fermeture de l'écorce . La zone déprimée créée par cette fermeture est une région de moindre résistance et la putréfaction commence souvent en ce point .

Certains fragments ne passent pas au début par le stade de la saillie médullaire . Le cortex se referme directement, à la manière d'une bourse, sans subir de contraction préalable . L'évolution ultérieure est identique dans les deux cas . L'écorce peut même se refermer en laissant à l'extérieur le coeur de la moelle, en particulier le petit nodule central à partir duquel rayonnent les faisceaux de styles (Fig. 5 C) .

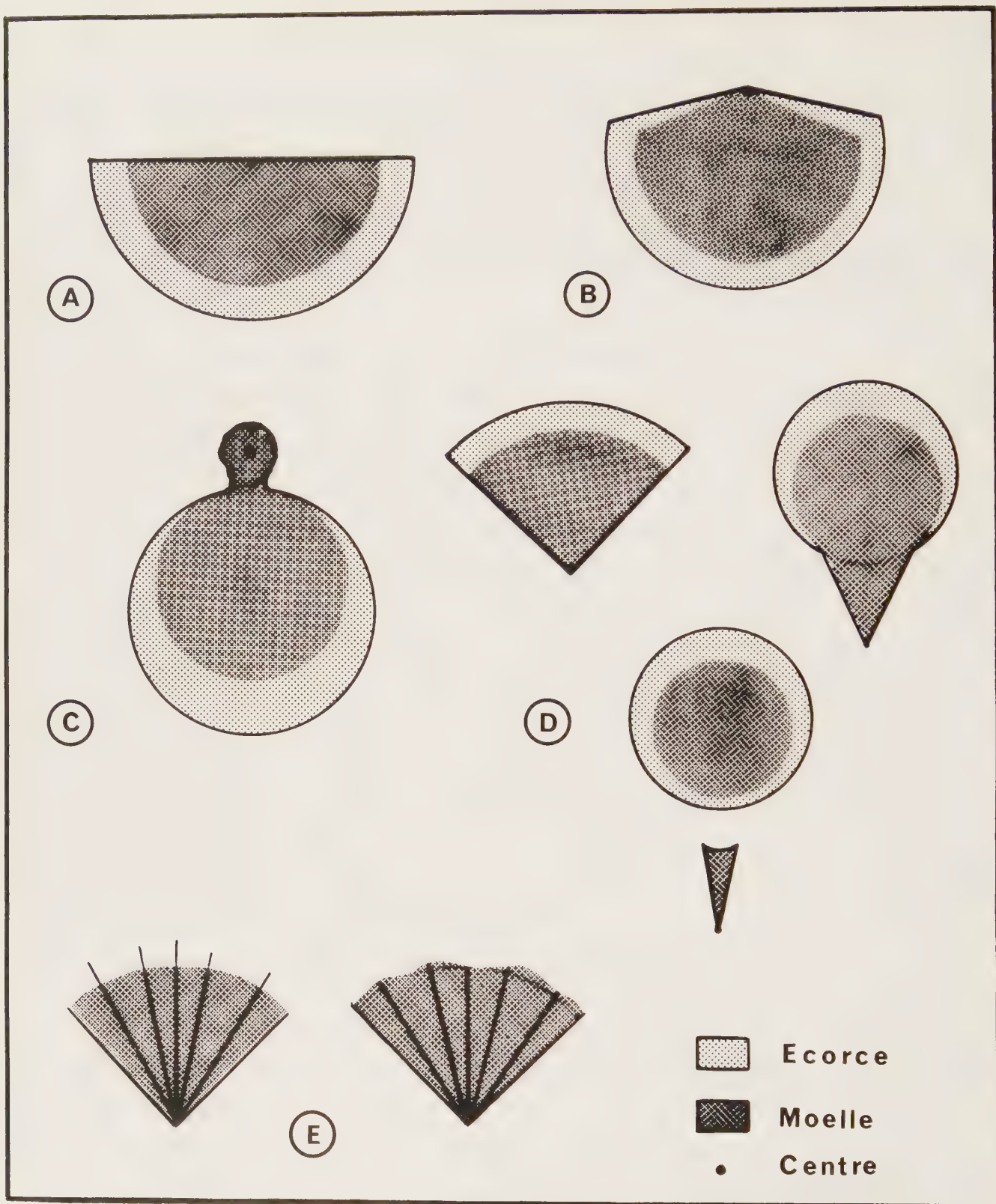


FIGURE 5. A. Coupe transversale d'une demi-*Tethya* montrant le rapport écorce/moelle. B. Le même fragment après contraction et début de migration des cellules corticales à la surface de section. C. Fermeture d'une demi-*Tethya* rejetant le nodule centro-médullaire. D. Evolution parallèle d'un quart de *Tethya* avec rejet d'une partie de la moelle. E. Ebauche de cicatrization d'un fragment de moelle.

2°) Evolution ultérieure .

La contraction initiale dure parfois six ou sept jours . Par contre, l'évolution après le retour à l'état turgescent est en général assez rapide . En un mois, on peut obtenir une fermeture presque complète et l'acquisition d'une forme grossièrement sphérique . Ce dernier phénomène est un des plus caractéristiques et des plus constants de la reconstitution . Il a pour conséquence immédiate l'existence, dans toute Eponge régénérée à partir d'une moitié, d'une grande asymétrie interne masquée par une surface à peu près normale .

La Tethya régénérée a une consistance beaucoup moins ferme que celle des individus normaux et une couleur bien plus claire ; sa surface veloutée retient de nombreuses particules étrangères . Sur certains spécimens , on distingue des sortes de zones polygonales assez larges délimitées par des faisceaux de fibres ou de cellules fibrogénétiques (Fig. 9' A) . Les oscules sont groupés sur un territoire réduit et, si le fragment mis en expérience possède sa région osculaire, celle-ci redevient fonctionnelle dans le régénérat . . . Dans le cas contraire, un oscule se forme sur le nouveau pôle apical déterminé par la fixation . Cette loi connaît de nombreuses exceptions et des oscules peuvent apparaître en des points variables . On n'observe pas la régularité bien connue chez les Eponges calcaires de type Sycon où le fragment inférieur reforme toujours un oscule dans la partie antérieure et jamais sur les parties latérales .

La cicatrisation s'accompagne d'une fixation de l'Eponge au support . Elle émet vers le septième jour, parfois plus tard, des sortes de filaments plus ou moins longs, dans toutes les directions . Certains atteignent le fond ou les parois de l'aquarium, selon la position de l'Eponge, et prennent contact avec la partie solide à laquelle ils adhèrent promptement . Même lorsque la fixation est rapide, elle

n'est solide et durable qu'au bout de quinze jours et ne se produit parfois qu'après plusieurs mois .

Les prolongements filamenteux situés dans des directions ne permettant pas la fixation, se renflent en massue et sont à l'origine des bourgeons bien visibles vers le quinzième jour . Une abondante production de ces éléments est toujours suivie d'une diminution sensible du volume de l'Eponge, privée d'une grande partie de son matériel cellulaire . Après la chute des bourgeons, la surface montre des points jaune-vif qui correspondent aux zones de rupture et tranchent sur l'ensemble brun .

Que la reconstitution s'effectue avec la totalité de la région médullaire ou avec un rejet partiel de cette dernière, l'évolution du cortex, notamment sa dédifférenciation, est toujours la même . Elle ne varie pas davantage avec l'état initial de la surface (verrucosités à sommet plat et polygonal ou apophyses en forme de cônes allongés) . Dans les deux cas, toutes les saillies diminuent de volume par suite d'abondantes migrations cellulaires ; la surface passe par un stade à aspect velouté . Au moment où l'écorce se referme, des cellules d'origine interne viennent compenser les pertes préalablement subies .

Lorsque la régénération échoue, en particulier à cause d'une prolifération massive de bactéries, cortex et moelle ont tendance à se séparer ; un liseré blanchâtre apparaît entre ces deux zones . S'il y a putréfaction, l'écorce résiste toujours beaucoup mieux que la moelle .

B - Quarts de Tethya

Comme pour les demi-Tethya, la phase initiale est une

contraction du cortex provoquant une forte saillie médullaire . L'importance de cette rétraction est plus faible que dans les premiers cas et la turgescence tarde moins à se produire . Elle est accompagnée d'une migration de cellules corticales vers les surfaces de section qui sont régulièrement lisses après huit ou neuf jours . L'écorce a tendance à se replier sur elle-même en englobant la moelle, et l'ensemble prend une forme à peu près sphérique . Les aspérités extérieures disparaissent ; les spicules dénudés donnent à l'Eponge l'aspect velouté caractéristique . Sa consistance est plus molle qu'au départ .

Le cortex peut se refermer en excluant une partie de la moelle qui reste accrochée à lui pendant un certain temps (Fig. 5 D) . Une dépression persiste en ce point après la chute .

Vers le dixième jour suivant le début de l'expérience, les fragments de Tethya émettent de longs prolongements souples pour se fixer . Ces éléments peuvent leur permettre de s'unir entre eux quand ils sont assez rapprochés, et sont l'équivalent des " ponts " observés par PARIS au cours des greffes . Les filaments qui se renflent à leur extrémité distale peuvent engendrer des bourgeons vers le quinzième jour . Un bourgeonnement abondant entraîne une diminution de taille du fragment d'Eponge qui en est la source .

Certains régénérats ont bourgeonné une deuxième fois au bout de neuf mois mais d'une manière plus dissimulée (émission d'un ou deux gros bourgeons basaux faiblement pédonculés) .

Dans la plupart des cas, la régénération est marquée par l'acquisition d'une forme sphérique, bien que l'on puisse obtenir des éléments difformes . Nous avons, en particulier, constaté ce phénomène lorsque le cortex ne se referme pas . Le tissu cicatriciel des

surfaces de section forme alors une véritable écorce qui n'est plus discernable de l'ancienne différenciée . C'est seulement au niveau de cette dernière qu'apparaissent toutefois les bourgeons, si la reproduction asexuée se manifeste . Lorsque la reconstitution se fait d'une manière anarchique, les migrations cellulaires sont désordonnées, l'Eponge s'étire et bourgeonne dans toutes les directions .

C - Huitièmes de Tethya

La taille de l'écorce est dans ce cas trop faible par rapport à celle de la moelle pour que le premier de ces tissus englobe le second en se refermant . Les cellules corticales migrent vers les surfaces de section et masquent les spicules rayonnants . Le cortex semble ainsi s'accroître tout en se différenciant et se confond peu à peu avec la nouvelle écorce formée à la surface de la moelle . Le fragment devient grossièrement sphérique et il arrive un moment où l'on ne fait plus la différence entre les deux zones initiales . Seuls les bourgeons, quand ils sont présents, permettent d'identifier l'écorce car ils apparaissent toujours à son niveau . Cette disposition semble à la fois liée à un facteur anatomique, en particulier à l'orientation des spicules servant de support aux sorites et à la nature de leurs cellules constitutives moins nombreuses dans le choanosome que dans le cortex .

La fixation au support et le bourgeonnement se produisent parfois mais d'une manière moins intense que dans le cas de plus gros fragments . Le nombre de cellules disponibles pour assurer le déroulement de ces deux phénomènes est, en effet, plus faible ici .

Si la régénération réussit parfaitement, on obtient une petite Eponge sphérique semblable à celle dérivant d'un quart de Tethya .

D - Seizièmes de Tethya

Aucune régénération n'a été ébauchée durant les quelques jours où ces fragments ont survécu .

E - Fragments de cortex

La régénération se fait très bien, à condition qu'ils aient une taille suffisante . Les résultats sont nettement meilleurs, par exemple, avec des quarts qu'avec des huitièmes .

Au bout de trois à cinq jours, en général, les morceaux d'écorce se recourbent ; leurs bords sont de plus en plus arrondis au lieu d'avoir une section plane et les angles de plus en plus émoussés . Après douze ou quinze jours, ce phénomène s'accroissant, les parties latérales se rejoignent ; on obtient alors des sortes de boules qui se fixent au support . Si la jeune Eponge régénérée vit quelques mois, la fermeture est dissimulée et l'on ne peut plus retrouver les traces initiales de la soudure . Un nouveau choanosome se reforme . L'aspect d'une Tethya normale est acquis en une vingtaine de jours, parfois plus rapidement encore . La reconstitution de la moelle est beaucoup plus longue .

Aucun bourgeonnement ne s'est produit malgré l'émission de nombreux filaments, pour la plupart fixateurs . On comprend très bien que dans ce cas la majorité des cellules de régénération sont utilisées pour reformer le choanosome .

F - Fragments de moelle

Dans quelques rares cas, les morceaux d'Eponge uniquement

constitués par la portion médullaire ont vécu plusieurs jours et ébauché une cicatrisation, mais ils n'ont jamais pu régénérer complètement .

Comme le montre la figure 5 E, peu de temps après le début de l'expérience, de nombreuses cellules venant de l'intérieur de la moelle migrent vers les surfaces de section . Les arêtes et angles vifs sont ainsi masqués par un tissu cicatriciel peu épais qui ne se transforme jamais en une véritable écorce .

G - Résistance des Eponges en aquarium : réussite ou échec de l'expérimentation

Toutes nos expériences, pratiquées sur plusieurs centaines de Tethya, ont été échelonnées sur trois ans . Nous avons eu ainsi l'occasion d'apprécier le taux de mortalité en fonction du temps aussi bien pour des individus entiers que pour des fragments . Le tableau de la page 53 qui présente l'ensemble de ces résultats, vient à l'appui des conclusions suivantes :

1. Les Tethya normales et d'apparence saine, placées dans des aquariums à circulation d'eau de mer, en différentes périodes de l'année, s'adaptent assez mal à leurs nouvelles conditions de vie . 63,25 p. 100 seulement vivent plus d'un mois et aucun specimen n'a subsisté au-delà d'un trimestre . Aucune différence de comportement n'a été observée en fonction de la taille, de la présence ou de l'absence d'apophyses corticales ou de bourgeons . Les individus les plus résistants se sont fixés au support, certains ont même bourgeonné . La mort est en général précédée d'une mélanisation plus ou moins accentuée, sauf si elle provient d'une invasion rapide par des bactéries .

Spécimens en expé- rience	Durée	Eponges entières	Demi- Tethya	Quarts de Tethya	Huitièmes de Tethya	Seizièmes de Tethya	Fragments cortex		Fragments moelle	
							Quarts	Huitièmes	Quarts	Huitièmes
1ère semai- ne		31,5 %	31,14 %	50,20 %	67,84 %	100 %	57,5 %	57,15 %	66,67 %	88,88 %
1er mois		5,25%	22,95 %	39,21 %	28,58 %		30 %	42,85 %	33,33 %	11,12 %
2ème mois		52,75%	22,95 %				7,5 %			
3ème mois		10,5 %	14,76 %							
4ème mois										
5ème mois			1,64 %	4,54 %						
6ème mois					1,79 %					
7ème mois										
8ème mois					1,79 %					
9ème mois			3,28 %	1,51 %			5 %			
10ème mois			3,28 %							
11ème mois				1,51 %						
12ème mois				3,03 %						

POURCENTAGES DE VITALITE DES INDIVIDUS EXPERIMENTES EN FONCTION DU TEMPS

2. Les pourcentages de résistance au-delà d'un mois (délai considéré comme nécessaire à une reconstitution au moins partielle) passent de 45,91 p. 100 avec les demi-Tethya à 0 p. 100 avec les seizièmes, les chiffres intermédiaires étant de 10,59 p. 100 pour les quarts et 3,58 p. 100 pour les huitièmes . On note donc un net accroissement de la mortalité au cours du premier mois, lorsque l'on diminue la taille des fragments mis en expérience . Par contre, si la reconstitution n'échoue pas, les régénérats sont susceptibles de vivre dix à douze mois .

3. La résistance de l'écorce, dont certains fragments ont vécu jusqu'à neuf mois, est bien supérieure à celle de la moelle comme l'avait déjà noté VAILLANT (1869) .

4. Malgré la différence de température qui les caractérise, deux mois de l'année paraissent favorables à l'expérimentation sur Tethya : Mai et Novembre . Avec une température moyenne ne dépassant pas 18°, nous avons obtenu en Mai une survie au-delà du premier mois de 50 p. 100 pour les Eponges entières, 31,25 p. 100 pour les demi-Tethya, 31,25 p. 100 pour les quarts, 8,33 p. 100 pour les huitièmes, 0 p. 100 pour les seizièmes . Les résultats de Novembre sont également très bons . Il est intéressant de constater que les deux mois de l'année au cours desquels la régénération s'effectue dans les meilleures conditions sont Mai et Novembre . Le premier correspond à la période précédant l'apparition de la sexualité et le deuxième à l'époque optima pour le bourgeonnement . Il doit y avoir dans les deux cas de nombreux remaniements tissulaires, des multiplications et des différenciations qui augmentent le stock de cellules mésenchymateuses . Le premier trimestre de l'année est peu favorable bien que la fraîcheur freine en partie la pullulation bactérienne . Celle-ci est de règle pendant l'été lorsque la température de l'eau dépasse 20° .

Une température de 12 à 14° est optima pour un début d'expérience car c'est dans les premiers jours que se décide le succès ou l'échec de la régénération . Lorsque la reconstitution est assez avancée, les Eponges peuvent subir sans inconvénient des variations thermiques importantes .

III - ETUDE HISTOLOGIQUE DU TISSU DE CICATRISATION

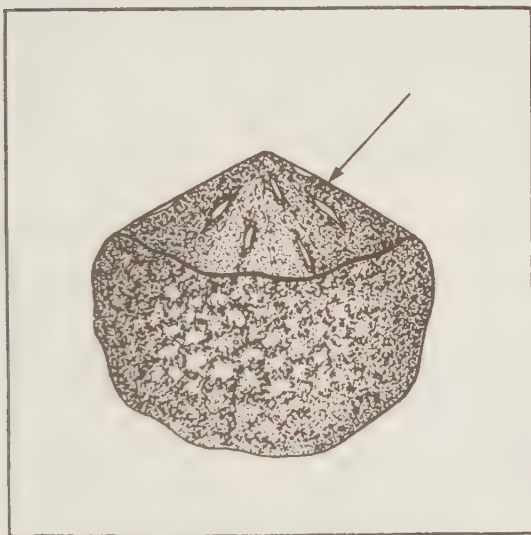


FIGURE 6. Apparition d'un tissu cicatriciel sur le choanosome d'une demi-*Tethya* en régénération.

Comme nous l'avons indiqué ci-dessus, la surface de section d'un fragment de *Tethya* fraîchement coupé est rapidement recouverte par un tissu cicatriciel qui masque les faisceaux de spicules dénudés et constitue, au niveau de la moelle, une sorte de néo-cortex (Fig.6).

D'épaisseur variable et d'aspect fibreux (Pl. X et Fig. 7), ce tissu comporte plusieurs assises de cellules régulièrement disposées.



FIGURE 7. Composition du tissu cicatriciel de la surface de section d'une *Tethya*.
 Am. : amœbocyte - Ar. : archaéocyte - C. d. : cellule dégénérante - C. s. : cellule sphéruleuse - T. a. : « tissu alvéolaire ».

Elles sont parallèles aux faisceaux de spicules radiaires, en étroite cohésion au sein du collagène qu'elles ont engendré en se déplaçant . Des coupes perpendiculaires à l'axe d'étirement des cellules révèlent un tissu ayant l'aspect d'un réseau très dense de collagène dans les mailles duquel apparaissent les noyaux entourés d'une faible quantité de cytoplasme . La périphérie n'est pas limitée, comme on pourrait s'y attendre, par un épithélium pinacocytaire régulier . Celui-ci est peut-être appelé à se former plus tard aux dépens des cellules sous-jacentes, mais au stade où ont été faites les coupes, la surface était le siège d'un rejet de cellules pour la plupart en dégénérescence . Les petits asters et les scléroblastes qui les engendrent sont également absents .

Les lophocytes très abondants à ce niveau constituent presque à eux-seuls cette couche de protection . Les fibres qui les prolongent, parallèles entre elles, accentuent l'aspect strié de ce tissu . La majorité de ces cellules sont en fin d'évolution fortement intégrées aux faisceaux de collagène qu'elles ont fabriqués . Leur longueur est alors indéterminable , leur largeur (environ $3\ \mu$) ne dépassant guère celle du noyau . Ce dernier très étiré ou subrectangulaire possède une membrane épaisse, un petit nucléole ou quelques grains de chromatine . Mêlés à ces éléments presque isodiamétriques, des fibroblastes plus jeunes ($30\ \mu \times 6\ \mu$) pourvus de granulations intracytoplasmiques sidérophiles de $0,5\ \mu$, manifestent encore une activité fibrogénétique et se déplacent . Leur extrémité antérieure effilée évoque une migration . Le noyau sphérique ($3,5\ \mu$) contient un nucléole et des grains de chromatine souvent reliés par un fin tractus . Il est situé au pôle antérieur de la cellule, le panache fibrillaire étant postérieur .

Au sein de ce complexe s'insinuent d'autres cellules, en nombre plus réduit, parmi lesquelles nous devons citer :

- des amœbocytes granuleux n'intervenant pas dans la fibrogenèse. La taille de leur noyau ($4,5\mu$), la présence d'un énorme nucléole et l'aspect général du cytoplasme signent une nature archaeocytaire .
- des amœbocytes sans granulations, fortement étirés, dont les extrémités se perdent dans les fibres environnantes . Leur gros noyau nucléolé (jusqu'à 6μ de diamètre) contient des grains de chromatine parfois reliés par un fin réseau .
- de petits amœbocytes à cytoplasme clair ($9\mu \times 6\mu$), à rapport nucléo-plasmatique moyen (diamètre du noyau $2,2\mu$) . Ils correspondent aux amœbocytes sensu stricto .
- des amœbocytes sphéruleux ($30\mu \times 12\mu$), dont le noyau varie en taille et en aspect . Comme nous l'avons indiqué au début de ce travail, les sphérules sont compactes ou finement granuleuses ; l'une d'entre elles (parfois deux), plus grosse et plus sidérophile, se caractérise aussi par sa grande affinité pour l'éosine .

Au cours des migrations qui permettent l'établissement progressif d'une couche de recouvrement à la surface du choanosome, nombre de cellules se différencient ou subissent de grands changements . Le plus spectaculaire aboutit à la formation, en certains points, d'une sorte de " tissu alvéolaire " présentant une convergence d'aspect avec le tissu adipeux des organismes supérieurs, ou avec certains tissus végétaux (Pl. X, et Fig. 7) . FAURE-FREMIET (1932) emploie le terme de " masses alvéolaires résiduelles " pour désigner des structures de ce genre, dans les cultures de Ficulina ficus de 8 jours . Les " alvéoles " grossièrement sphériques ou déformés par des pressions réciproques, juxtaposés ou se chevauchant, ont une taille moyenne de 6 à 9μ . Certains paraissent dériver d'un seul amœbocyte réduit à une énorme vacuole, après dégénérescence nucléaire . La plupart, cependant, trouvent leur origine à l'intérieur

de grosses cellules (probablement des archaeocytes et surtout des amoebocytes sphéruleux) qui s'hypertrophient, se vacuolisent et digèrent leurs inclusions . Ils prennent alors l'aspect d'un ensemble compartimenté dans lequel le noyau, s'il est encore visible, est déformé et en position excentrique . Ces grandes vacuoles sont très claires ; quelques-unes possèdent de pâles granulations . Lorsque la cellule hypertrophiée se déforme par étirement entre les faisceaux de fibres, les vacuoles décroissent de la partie la plus large à l'extrémité effilée . Il n'est pas rare de rencontrer dans ces ensembles quelques noyaux hypertrophiés ($7,5 \times 4,5 \mu$) et clairs, que l'on a parfois de la peine à différencier des alvéoles environnants .

IV - TRANSFORMATIONS DU CHOANOSOME AU COURS DE LA RECONSTITUTION .

La moelle d'une Tethya adulte normale est formée, pour une grande part, de choanocytes de petite taille, généralement groupés en corbeilles vibratiles . Quelques uns migrant dans le mésenchyme, subissent une dédifférenciation morphologique par perte du flagelle et de la collerette et affectent une forme effilée .

Autour des corbeilles et des canaux assurant la circulation de l'eau, au sein d'un collagène beaucoup moins important que dans l'écorce, sont dispersés de nombreux amoebocytes dont le cytoplasme clair, pauvre en inclusions, entoure un noyau plus gros que celui des choanocytes . Les archaeocytes bourrés de grosses granulations se rencontrent surtout à proximité des faisceaux de spicules radiaires mais aussi, de manière éparse, dans le mésenchyme; lophocytes et amoebocytes sphéruleux sont assez rares, avec une prépondérance cependant autour des faisceaux de styles .

Le choanosome d'un fragment d'Eponge en train de régénérer a un tout autre aspect . L'organisation en corbeilles et canaux disparaît, pendant que se constitue un tissu dense presque exclusivement formé d'archaeocytes (Pl. X) .

Des lacunes irrégulières communiquant avec l'extérieur par les pores du tissu cicatriciel assurent la respiration et la nutrition . Ces orifices apparaissent à la surface sous forme d'ellipses, dont le grand axe est toujours parallèle aux fibres et aux spicules . Ils sont entourés d'un sphincter très important de cellules de type musculaire qui se présentent en microscopie photonique comme les proches parents des lophocytes . Pour PAVANS DE CECCATTY (1960) et PARIS (1961), ces éléments musculaires semblent représenter le terme d'évolution des fibroblastes . Leur concentration autour des orifices pour constituer des sphincters est ici le seul critère permettant de les différencier des éléments fibreux du tissu cicatriciel . Quelle que soit l'origine des formations musculaires, la microscopie électronique nous fournit des différences de structure appréciables entre ces deux types cytologiques .

Les archaeocytes à très gros noyaux (3 à 6 μ) nucléolé, serrés les uns contre les autres, se déforment, se chevauchent, participant rarement à la fibrogenèse . Leur taille et leur forme sont très variables . Ils sont généralement allongés lorsqu'ils se déplacent, ou polyédriques lorsqu'ils sont immobiles et exercent des pressions les uns sur les autres . On peut déjà observer à ce niveau leur tendance à se grouper en amas, dans lesquels il est souvent difficile de reconnaître les limites cellulaires . Perdus au milieu d'eux, quelques choanocytes ne se distinguent plus que par la taille du noyau .

Nous n'avons jamais vu de mitoses dans les archaeocytes à

ce stade mais les figures d'amitose par clivage sont assez fréquentes. Beaucoup de noyaux présentent une ligne équatoriale claire partant du nucléole ou réunissant deux nucléoles diamétralement opposés .

Dans certaines régions qui sont peut-être des centres de remaniement cellulaire, on trouve entre les faisceaux de collagène des granulations et des noyaux épars, le tout ayant en microscopie photographique l'aspect d'un syncytium .

Les modifications du choanosome varient avec la distance qui sépare la zone considérée de la surface de section et avec la taille du fragment mis en expérience .

Si l'on prend le cas, par exemple, d'une demi-Tethya possédant l'osculum de l'Eponge d'origine, on trouve une véritable stratification à partir du plan de section :

- couche plus ou moins épaisse de tissu cicatriciel ;
- zone dense d'archaeocytes ;
- zone avec corbeilles dédifférenciées dont certains éléments migrent dans le mésenchyme environnant ;
- zone de choanosome normal avec corbeilles fonctionnelles .

Par contre, lorsque les fragments sont plus petits, la dédifférenciation peut être générale et de longue durée . Plus la taille diminue, en effet, plus la section constitue un traumatisme important pour les tissus environnants et plus la désintégration est grande . Les premières cellules mobilisées pour la cicatrisation sont celles de surface mais le relais doit être pris rapidement par les couches sous-jacentes qui se dédifférencient peu à peu . Le fragment mène alors des conditions de vie particulières et l'Eponge qui se développe ultérieurement dérive d'un complexe d'amœbocytes, un peu à la manière d'un

bourgeon ou d'une réductie .

Pour utiliser la terminologie de l'Ecole russe de TOKIN, nous parlerons dans le premier cas de régénération au sens strict et dans le deuxième, d'embryogenèse somatique .

Notons au passage que l'accumulation d'archaeocytes au-dessous du tissu cicatriciel qui est renforcé en permanence, constitue une sorte de blastème de régénération rappelant les amas de néoblastes des Planaires .

V - STRUCTURE D'UNE TETHYA DE QUELQUES MOIS, RE-CONSTITUEE A PARTIR D'UN QUART D'ECTOSOME .

Affectant grossièrement la forme d'une sphère légèrement aplatie suivant son axe apico-basal, l'Eponge reconstituée à partir d'un quart d'ectosome a un volume réduit par rapport à son état initial . La face inférieure adhérant au support présente sur le côté quelques fortes expansions fixatrices et même un petit bourgeon . Les coupes révèlent l'existence de deux zones concentriques (cortex et moelle) et d'une lacune centrale subdivisée par des poussées tissulaires de la moelle (Fig. 8) . La partie fixatrice correspondant au point de fermeture du fragment d'Eponge, présente une grande épaisseur de collagène et une faible densité cellulaire . Le choanosome s'est reformé dans la région marginale de l'écorce, aux dépens des cellules de l'ectosome . Il est beaucoup plus développé dans la zone supérieure que vers la base . Sa prolifération tend peu à peu à remplir la lacune centrale créée par l'enroulement d'un élément concave . La moelle néoformée n'a pas atteint son état définitif mais beaucoup d'archaeocytes ont engendré des choanocytes qui se groupent en corbeilles . Le système de canaux paraît encore incomplet .

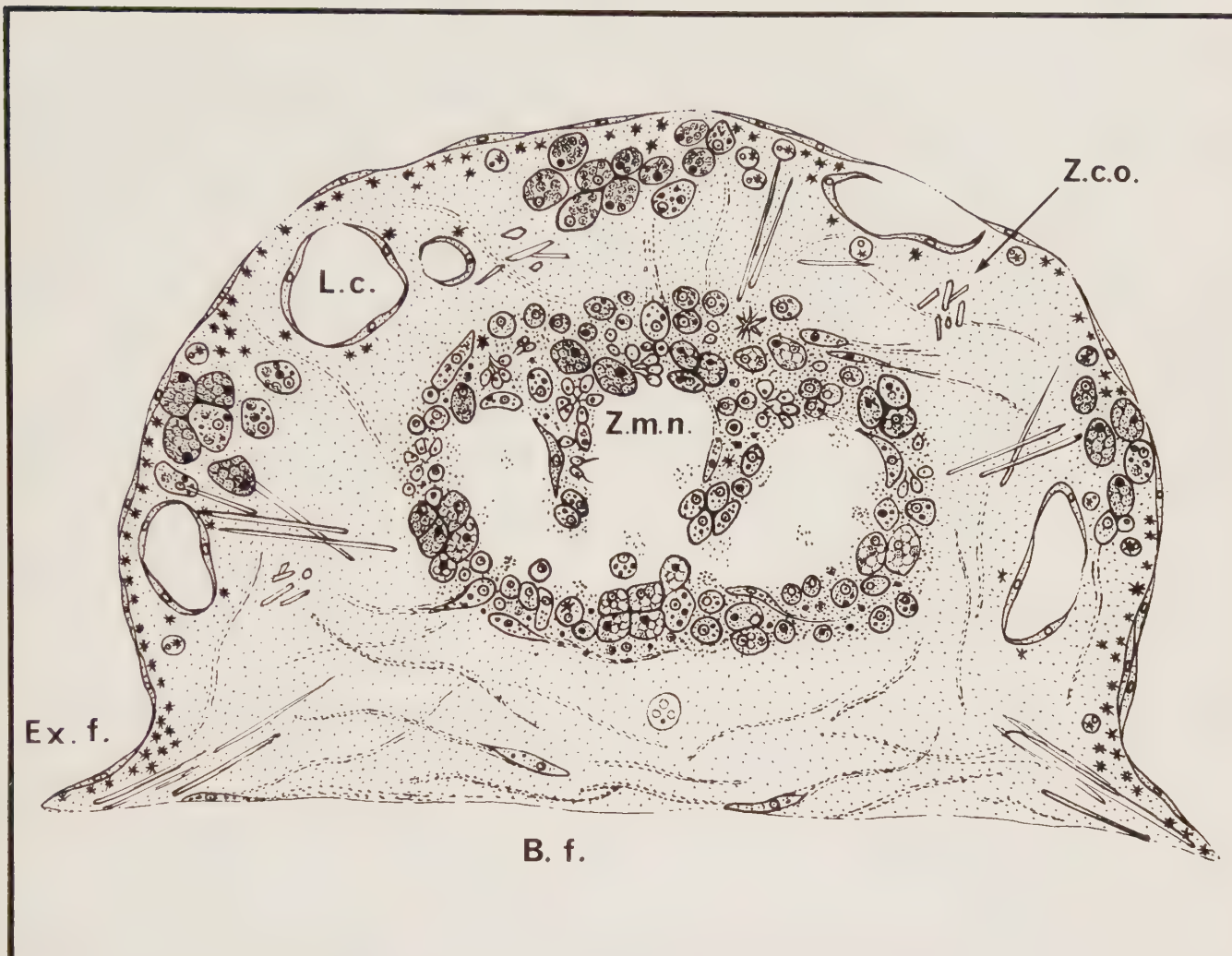


FIGURE 8. Coupe schématique d'une *Tethya* se reconstituant à partir d'un fragment d'ectosome.
 Z.c.o. : zone corticale d'origine - Z.m.n. : zone médullaire néoformée .
 Ex. f. : expansion fixatrice - B. f. : base de fixation - Lacune corticale.

VI - TYPES PARTICULIERS D'EVOLUTION .

Si un certain nombre de fragments de Tethya sont susceptibles de redonner une Eponge, beaucoup sont incapables de régénérer ou dégénèrent sans raison apparente, après avoir ébauché un début normal de reconstitution . On assiste souvent, dans le premier cas, à l'isolement d'un groupe de cellules capables de résister à la putréfaction en se détachant plus ou moins de l'individu dégénérescent . Nous allons décrire brièvement quelques manifestations de ce type, ainsi que les phénomènes d'involution observés parfois dans des régénérats âgés de plusieurs mois .

A - Echecs de la reconstitution

1°) Formation d'une excroissance médullaire sur un huitième de Tethya en expérience depuis 15 jours .

Un fragment d'assez petite taille ayant élaboré une couche protectrice de recouvrement à la surface de section du choanosome n'a manifesté, à aucun moment, la tendance caractéristique à prendre une forme sphérique . Nous avons noté, au contraire, la libération désordonnée des facultés migratrices des cellules et des spicules et l'apparition conséquente d'une excroissance assez volumineuse à la limite de l'écorce et de la moelle (Fig. 9 C) .

L'analyse histologique de cette sorte de gros bourgeon. révèle une structure inattendue, la région marginale ayant à peu près la composition du cortex . De vastes plages de collagène traversées par des cellules en migration, entourent des lacunes bordées de pinacocytes . Ces derniers forment également à la périphérie une assise continue au-dessous de laquelle se situent, de part en part, quelques as-

ters . Au sein de la substance fondamentale, entre de rares cellules sphéruleuses et quelques archaeocytes ou lophocytes bourrés de granulations, la majorité des cellules ont un diamètre de 9 à 10 μ , un cytoplasme clair, un petit noyau nucléolé (2 μ) et une grosse sphérule éosinophile (3 μ) .

Le centre de l'excroissance ressemble au choanosome désintégré, caractéristique d'une Eponge ayant subi un important traumatisme . Les corbeilles vibratiles sont absentes et les cellules généralement groupées en amas ou en files comme dans un régénérat dérivant de cellules dissociées . La majorité des choanocytes sont différenciés et beaucoup sont phagocytés par des archaeocytes qui se chargent peu à peu d'inclusions . On ne trouve pas dans cette région de cellules claires, à grande sphérule éosinophile .

Nous sommes donc en présence d'une formation qui paraît prendre le relais d'un fragment incapable de régénérer en totalité . L'évolution très rapide de la périphérie en une sorte d'écorce est surprenante alors que le centre est toujours dans un état indifférencié et confus . Nous n'avons pas laissé évoluer cette prolifération mais l'aspect extérieur semblait indiquer un détachement prochain à partir du fragment d'origine . Tout permet de penser qu'elle aurait donné par la suite une petite Eponge, car elle possédait au départ les éléments nécessaires à cette évolution, dans un rapport paraissant favorable .

2°) Séparation de quelques faisceaux de styles, support de cellules vivantes, d'un fragment en putréfaction .

Nous avons représenté sur la figure 9 E, un fragment de Te-thya envahi par des bactéries, dont une infime partie de la moelle est encore bien vivante . Autour de quelques faisceaux de styles, s'agglom-

mère un tissu médullaire en plein remaniement . Des cellules étirées, tassées les unes contre les autres comme dans un tissu cicatriciel, limitent la périphérie . Au-dessous se trouvent des corbeilles vibratiles encore normales, quelques canaux et de nombreux amœbocytes . La plupart des choanocytes sont cependant dédifférenciés . Les polyblastes nombreux, ainsi que les archaeocytes, manifestent une intense phagocytose, phénomène allant de pair avec la désintégration des tissus .

Cet exemple nous montre encore une fois le pouvoir de résistance de Tethya lyncurium, chez laquelle un lot de cellules plus ou moins dédifférenciées arrivent toujours à s'isoler de l'ensemble dégénérescent .

Nous citerons encore quelques faits à l'appui de cette constatation pour prouver sa fréquence et son importance dans la conservation de l'espèce .

3°) Autres exemples de survivance d'un faible lot de cellules

Il est assez fréquent de voir apparaître sur un fragment de moelle, au niveau de la région dénudée au cours de l'expérience et normalement en rapport avec l'écorce, un petit nodule de quelques millimètres, pluri-lobé, porté par un faisceau de spicules (Fig. 9 F). Ces derniers sont dénudés et soulèvent la masse cellulaire de couleur jaune vif, au-dessus de la surface . Au point de vue histologique, cette masse est formée d'une grande quantité d'archaeocytes accompagnés de petits amœbocytes (probablement dérivés des choanocytes) et de quelques cellules sphéruleuses . Si la fibrogenèse était plus importante à l'intérieur de ce complexe et qu'un support de collagène soit déjà élaboré, on pourrait parler d'un véritable bourgeon . De telles formations ont pu être conservées plusieurs mois en aquarium sans se développer en petites Eponges . Il arrive souvent d'ailleurs, que les vrais bourgeons demeurent très longtemps dans un état quiescent .

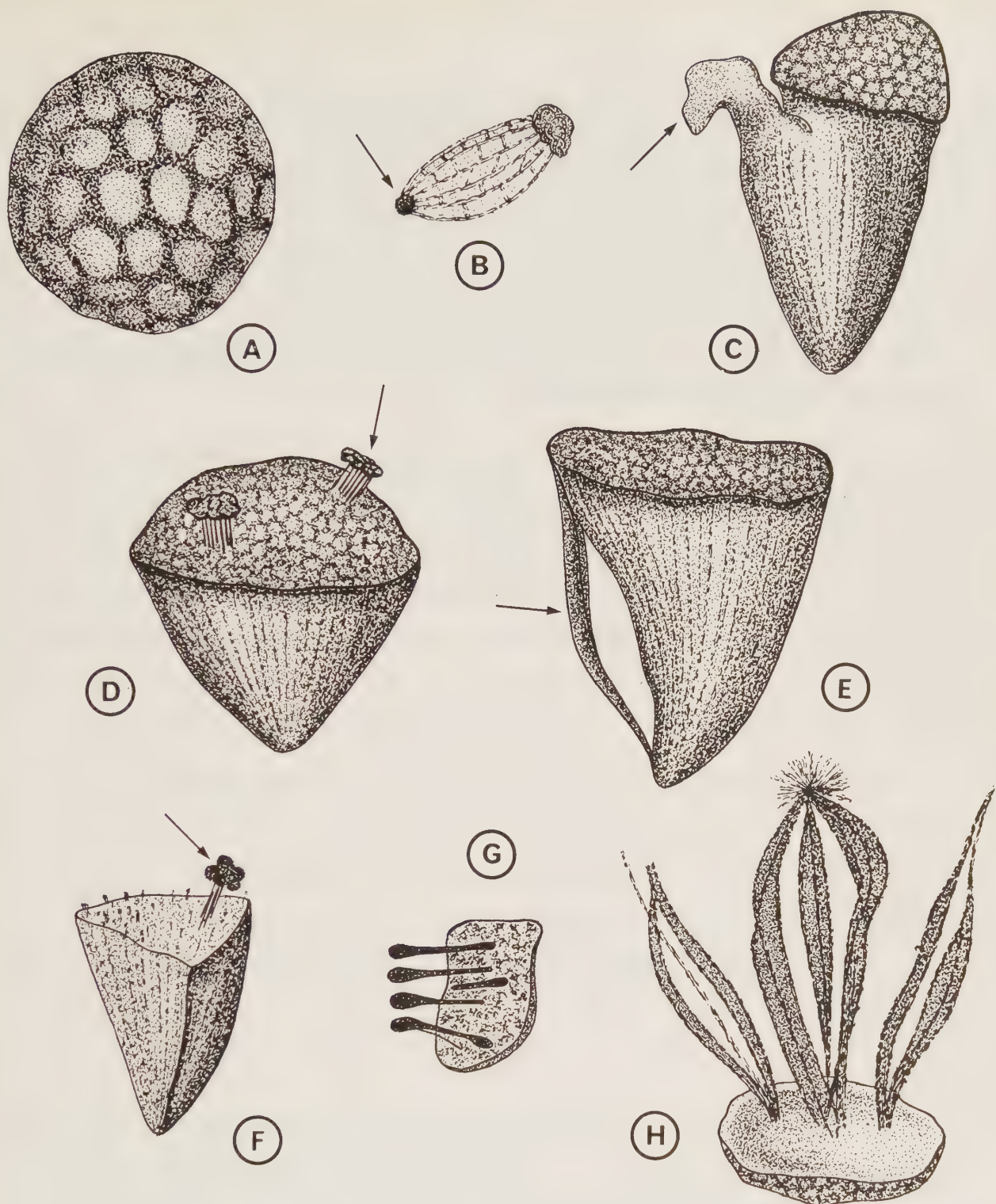


FIGURE 9. A. *Tethya* reconstituée à partir d'une moitié, montrant un cortex à larges zones polygonales. B. Charpente squelettique d'un fragment de moelle ayant, à une extrémité, un nodule cellulaire (x). C. Apparition d'une excroissance médullaire sur un fragment de *Tethya* dont la reconstitution n'a pas suivi le processus normal (x). D. Rejet par un fragment de *Tethya* en régénération, d'éléments corticaux atteints de nécrose (x). E. Isolement de quelques faisceaux de styles, portant des cellules vivantes, d'un fragment en putréfaction (x). F. Nodule plurilobé d'origine médullaire porté par un faisceau de spicules (x). G. Condensation du choanosome sous forme d'éléments en massue solidaires de l'écorce. H. Dislocation générale d'un fragment de *Tethya*.

On peut aussi avoir une désintégration très poussée du choanosome . La figure 9 G représente, par exemple, un morceau d'écorce portant sous forme de quelques éléments en massue, les parties les plus résistantes d'une moelle dissociée . La figure 9 B évoque une désorganisation complète d'un fragment d'Eponge dont seule subsiste la charpente squelettique soutenant, à une extrémité, le nodule cellulaire indiqué par la flèche .

Lorsque le choanosome dégénère, une sphérule identique peut apparaître en son centre même, sans être atteint de putréfaction, comme les tissus qui l'entourent . Sa composition est toujours du même type : zone marginale formée de lophocytes et d'archaeocytes en fibrogenèse, zone centrale riche en archaeocytes, en choanocytes différenciés serrés les uns contre les autres et possédant, en outre, un certain nombre de cellules sphéruleuses et de polyblastes .

Il peut enfin arriver qu'une partie de Tethya abandonnée en eau courante soit le siège de migrations anarchiques (Fig. 9 H) conduisant à une dislocation générale . Pendant un certain temps, les faisceaux de spicules divergeant dans toutes les directions supportent des cellules vivantes mais l'invasion bactérienne ne tarde pas à se faire sentir .

Il ressort de ces divers faits que les échecs de reconstitution d'individus normaux à partir de fragments de Tethya sont souvent accompagnés de manifestations annexes qui ne sont pas sans rappeler les phénomènes de réduction bien connus chez les Eponges . Un petit nombre de cellules, pour la plupart chargées de réserves (les archaeocytes ont, en effet, un grand pouvoir de phagocytose), se groupent en certains points pour former des masses susceptibles de résister à de mauvaises conditions . La forte concentration de pigments à ce

niveau explique la couleur très vive de ces groupes cellulaires qui tranche sur les Eponges en dégénérescence . Comme dans toutes les formes de résistance, les cellules sont tassées les unes contre les autres pour occuper un volume minimum . L'apparition des lacunes ou des plages de collagène est un signe de redifférenciation .

B - PHENOMENES TARDIFS D'INVOLUTION .

Il arrive parfois que des fragments d'Eponge suivent pendant un certain temps la voie normale de la reconstitution (cicatrisation de la surface de section, fermeture du cortex, acquisition de la forme sphérique), se fixent au support et, après plusieurs mois, régressent et dégènèrent . Nous avons par exemple observé un tel phénomène chez un individu âgé de 11 mois et dérivant d'un quart de Tethya . Le premier signe d'involution, visible extérieurement, est une diminution de la taille . Des coupes passant par l'axe apico-basal (c'est à dire par la région osculaire et le centre de la zone adhérent au support) révèlent les aspects suivants :

1. l'écorce occupe une grande place par rapport à la région médullaire . Son épaisseur dans le cas considéré est, en effet, de 2 à 3 mm., alors que le diamètre de la région centrale n'est que de 3 à 5 mm.
2. Le collagène est beaucoup plus dense et beaucoup plus épais au point où le cortex s'est refermé .
3. L'écorce conserve son aspect caractéristique avec toutefois une très grande pauvreté en cellules et une grande richesse en substance fondamentale . Sa périphérie est limitée par une rangée de pinacocytes doublée de strongylasters . Viennent ensuite des cellules claires contenant plus ou moins d'inclusions et qui dégènèrent parfois .

4. La région médullaire manifeste une nette régression . L'agencement en corbeilles et canaux a disparu au profit d'un tissu très riche en cellules dans lequel le collagène occupe une plus grande place que dans une moelle normale . Il n'y a pratiquement plus de choanocytes et la majorité des cellules sont bourrées de corps phagocytés . Beaucoup se désintègrent et fusionnent en donnant des ensembles plurinucléés très clairs, parsemés de corps figurés souvent complexes . Ces cellules ou ces ensembles plurinucléés ne sont pas tassés les uns contre les autres mais séparés par du collagène . Il semble bien que la plupart des cellules manifestent, avant leur dégénérescence, une intense fibrogenèse, de sorte que s'établit par endroits un réseau dont les mailles correspondent aux corps cellulaires vidés de leur contenu .

Ce type d'involution progressive conduisant à la mort, se caractérise donc en premier lieu, par une intense phagocytose de la plupart des cellules par les archaeocytes qui ne se multiplient pas . Ce phénomène est accompagné d'une active fibrogenèse conduisant finalement à une dégénérescence fibreuse .

VII - CONCLUSION .

Par rapport à d'autres Eponges que nous avons eu l'occasion d'observer en captivité, les Tethya présentent des moyens remarquables de résistance, principalement liés à leur anatomie et à la composition histologique de l'écorce . Cette dernière, en grande partie formée de substance fibreuse, de lophocytes qui l'engendrent et d'archaeocytes à pouvoir phagocytaire élevé, est une barrière efficace contre les microorganismes, les Protistes et les Algues microscopiques .

Dans les individus entiers ou dans les fragments en régénération, la putréfaction, par exemple, atteint toujours en premier lieu le choanosome . De petites Eponges reconstituées, d'aspect extérieur normal , ont révélé après section une moelle noire et pourrie . Il est fréquent de voir un ectosome bien vivant se séparer de la masse centrale au niveau de la zone assez lâche qui relie ces deux tissus . Enfin, si l'écorce se referme au cours de la régénération, la dépression créée au niveau de la fermeture par l'invagination médullaire, est toujours le point faible par lequel débute la putréfaction . Or, c'est le seul endroit où le choanosome demeure en rapport direct avec le milieu extérieur .

La moelle n'est pourtant pas dépourvue de moyens de lutte, grâce à la multiplicité de ses éléments constitutifs . Mais les cellules capables de résister sont en nombre trop faible, par rapport aux autres catégories, pour assurer la survie d'une masse importante . Comme nous l'avons noté ci-dessus, le seul moyen pour le choanosome de résister est d'isoler une portion de lui-même de l'ensemble dégénèrescent .

Il existe au point de vue histologique une grande ressemblance entre le cortex et les bourgeons (nombre élevé de lophocytes, d'archaeocytes à activité fibrogénétique et de cellules sphéruleuses) . Ces derniers peuvent résister plusieurs mois en état de diapause, à des conditions variables de milieu et il en est de même de l'écorce qui est douée, parallèlement, de fortes capacités de résistance . L'activité fibrogénétique (d'origine lophocytaire ou archaeocytaire) existe dans la moelle mais elle est trop faible pour entraîner la reconstitution rapide d'une couche protectrice à la surface de section d'un fragment d'Eponge . Un grand nombre de choanocytes, incapables de se différencier, dégénèrent ou sont phagocytés et entraînent souvent la né-

crose de tout le régénérat et même du cortex si celui-ci est en proportion trop faible . Pour que la reconstitution s'effectue, il faut qu'une écorce se forme rapidement avant la dégénérescence choanocytaire .

Le cortex seul a le gros avantage de pouvoir se replier sur lui-même et d'opposer au milieu extérieur une surface d'Eponge normale et non une néoformation, en principe plus fragile .

Qu'il s'agisse de la résistance aux conditions du milieu ou du rôle joué dans la régénération, l'importance de l'écorce est toujours nettement supérieure à celle de la moelle . Dans nos expériences, nous n'avons jamais vu cette deuxième formation redonner une Eponge et il arrive souvent, lorsque les deux tissus sont présents, que le cortex se referme en excluant une grande partie ou la totalité du choanosome . On constate d'autre part une diminution des chances de reconstitution, lorsque le rapport écorce/moelle ne permet plus à la première d'englober la deuxième avec facilité .

La prépondérance de l'écorce est étroitement liée à une constitution anatomique immuable . Contrairement à la plupart des Eponges, Tethya lyncurium n'est pas polymorphe ; quelle que soit l'intensité des traumatismes reçus, elle a toujours tendance à reprendre sa forme sphérique, l'écorce se disposant régulièrement autour de la moelle . Il y a un équilibre entre ces deux formations . Cette disposition morphologique et anatomique, permanente et héréditaire, freine considérablement la réussite des homogreffes . Comme le fait remarquer PARIS, la première réaction du greffon est de mobiliser des cellules sans finalité précise pour élaborer les ponts cellulaires qui l'unissent au porte-greffe . Le greffon évolue par la suite en un " bourgeon expérimental " sphérique, capable de mener une vie indé-

pendante : son ectosome envahit son choanosome et l'ensemble acquiert la forme d'une boule qui se sépare de l'hôte . Un phénomène tout à fait parallèle se produit dans nos expériences : des fragments placés côte à côte durant les premières heures après leur section s'unissent par des ponts cellulaires avant que l'écorce reconstituée ne redonne à chaque morceau son individualité . Les " bourgeons expérimentaux " de PARIS sont donc les proches parents de nos régénérats, leur différence de comportement étant liée à la nature du processus expérimental d'origine . Ils commencent à évoluer comme de véritables greffons et mènent ensuite une vie indépendante, malgré leur petite taille, grâce à l'apport trophique du porte-greffe durant les premiers stades .

Lorsque l'Eponge ne manifeste pas sa tendance à reprendre une forme sphérique et que les migrations cellulaires s'effectuent de manière anarchique, la dégénérescence ne tarde pas à se produire . De petits groupes de cellules (semblables à des bourgeons) peuvent alors s'isoler pour assurer la persistance de l'espèce .

Comme nous l'avons déjà signalé, la première phase de la reconstitution d'une Tethya à partir d'un morceau d'individu adulte est l'élaboration d'une couche protectrice fibreuse . Les lophocytes, qui la composent en majorité, sont beaucoup trop nombreux pour provenir uniquement de la moelle dans laquelle on ne les rencontre qu'à l'état isolé . Dans le cas où le fragment initial comporte une partie d'ectosome et une de choanosome, il est facile de supposer une origine corticale de ces cellules . L'établissement du tissu cicatriciel s'accompagne, en effet, d'une différenciation simultanée de l'écorce d'où partent de nombreux lophocytes . La région périphérique diminue ainsi de volume et entraîne un ramollissement de l'ensemble . Par con-

tre, les morceaux composés seulement de choanosome, et qui dégénèrent rapidement, ébauchent dans les premiers temps une cicatrisation identique à la précédente . Il faut admettre dans ce deuxième cas une origine des fibroblastes à partir de cellules médullaires indifférenciées, donc d'archaeocytes . Ces derniers peuvent participer à la fibrogenèse sans subir, pour autant, de grandes modifications . On ne peut souvent faire la différence entre un lophocyte jeune, en pleine activité et un archaeocyte en migration, suivi de son panache fibrillaire . Nous avons observé les mêmes phénomènes au cours de l'établissement progressif des divers tissus dans un bourgeon .

L'origine des archaeocytes se pose alors de la même manière, étant donné la faible importance de la " réserve " médullaire . C'est ici qu'intervient le rôle du traumatisme initial dont la conséquence immédiate est une " rupture des corrélations qui permettent le maintien de l'organisation normale " . Sous l'influence de la section, se produit une désintégration des tissus accompagnée d'une réorganisation du matériel cellulaire originel . Beaucoup de choanocytes sont phagocytés pendant que des amœbocytes clairs de type polyblaste se chargent d'inclusions et se confondent peu à peu avec le petit nombre d'archaeocytes présents . Cette transformation est d'autant plus complète que les Eponges sont des animaux peu intégrés, chez lesquels une section cause de graves perturbations . Lorsque les fragments sont petits, il n'y a pas simplement régénération d'un cortex par migration de cellules sous-jacentes, mais départ d'une véritable embryogenèse somatique au sens de TOKIN (1963) . Au cours de ces processus, des choanocytes dédifférenciés sont susceptibles, pensons-nous, d'entrer dans la lignée des cellules totipotentes par l'intermédiaire d'un stade amœbocyttaire de longueur indéterminée . La dédifférenciation des éléments médullaires n'étant pas générale et totale, il

est impossible d'affirmer que la nouvelle Eponge se reconstitue à partir d'une seule catégorie cellulaire . Les choanocytes, par exemple, ne sont pas tous phagocytés . La perte du flagelle et de la collerette aboutit à la formation de petits amœbocytes susceptibles de se redifférencier en temps opportun ou d'évoluer dans le sens évoqué ci-dessus . Cet état de dédifférenciation partielle est caractéristique de l'embryogenèse somatique de Tethya à partir d'un fragment du corps. La persistance de quelques éléments dans leur état originel assure peut-être l'induction de la redifférenciation des archaeocytes dans un sens ou dans un autre, en mettant rapidement en place une ébauche d'organisation .

Au cours du premier mois en aquarium, les Eponges complètes supportent beaucoup mieux que les fragments les nouvelles conditions du milieu . Mais si la régénération réussit, certaines Eponges reconstituées peuvent vivre plus de six mois alors que les individus entiers ne résistent pas au-delà d'un trimestre . Tout se passe donc comme si le traumatisme, grâce au processus immédiat qu'il entraîne, pouvait accroître la résistance de l'Eponge . Les cellules migrant vers les surfaces de section (lophocytes et archaeocytes), engendrent une couche protectrice autour d'une moelle dédifférenciée qui a une physiologie ralentie et qui a augmenté son stock de cellules totipotentes . On peut donc penser que la mobilisation massive de types cellulaires résistants ainsi que les remaniements histologiques favorisant l'accroissement de ces types dans une Eponge appelée à réagir contre un traumatisme, rajeunissent l'individu et favorisent sa survie prolongée ainsi que sa résistance .

Il est assez curieux que MAAS ait obtenu des résultats différents chez Chondrosia reniformis qui présente de nombreux caractères communs avec Tethya . Les fragments composés des deux subs-

tances ont le même comportement chez les deux Eponges, le phénomène essentiel étant un réarrangement par migration de cellules plutôt qu'une véritable néoformation . Chez Tethya, cependant, des divisions se produisent par la suite car le matériel cellulaire initial est trop faible pour assurer la reconstitution complète . C'est le cas, en particulier, pour les Eponges dérivant d'un fragment d'ectosome, chez lesquelles toute la moelle ne peut se former aux dépens des seules cellules corticales, sans multiplication ou différenciation de ces dernières, puisqu'il n'y a pas de choanocytes au niveau de l'écorce . On est loin, dans ce cas, du simple réarrangement . MAAS ne signale pas la présence d'archaeocytes dans l'écorce de Chondrosia alors qu'il les observe en abondance dans la moelle . Chez Tethya, au contraire, les archaeocytes se trouvent à tous les niveaux et ils sont même abondants dans le cortex où leur accumulation est une étape au cours du bourgeonnement . Cette différence dans les rapports cellulaires explique certainement la différence de comportement des fragments corticaux ou médullaires chez les deux Eponges .

C H A P I T R E I I I

RECONSTITUTION DE TETHYA A PARTIR DE CELLULES

DISSOCIEES

I - HISTORIQUE

Après les premières expériences de WILSON, en 1907, les divers problèmes posés par les cellules d'Eponges dissociées, provenant d'adultes ou de larves, ont donné lieu à de nombreuses recherches, dans des directions souvent différentes . Il est aujourd'hui difficile d'analyser une littérature aussi abondante sous une forme condensée et nous nous contenterons donc de souligner les grandes lignes de recherche des principaux auteurs, en citant les dates importantes comme points de repère chronologiques .

Certains chercheurs ont limité leurs investigations au comportement des cellules fraîchement dissociées, au phénomène de contact inter-cellulaire, au mécanisme intime de l'adhésion des cellules entre elles et au problème de l'adhésivité spécifique . Nous citerons, parmi les travaux les plus marquants, ceux de : GALTSOFF et coll. (1923, 1926), SPIEGEL (1954, 1955), HUMPHREYS et coll. (1960-1965), CURTIS (1962), KIDO (1963), Mac LENNAN (1963), MOSCONA (1963), SIMONS (1963), MOOKERJEE et coll. (1964), MARGOLIASH et coll. (1965), YAZYKOV (1965), GASIC et coll. (1966) .

L'action de substances chimiques ou d'anticorps judicieusement choisis, l'influence de la concentration cellulaire initiale et des conditions du milieu sur la réagrégation des cellules et la reconstitution ultérieure ont retenu l'attention de GALTSOFF (1925), BRADWAY (1936), GANGULY (1962), RUUGE (1962), HUMPHREYS

et coll. (1964), KIDO et coll. (1965), MOOKERJEE et coll. (1965), Mac LENNAN et coll. (1967), YAZYKOV (1967)

Quelques auteurs, parmi lesquels WILSON (1911), LAUBENFELS (1927, 1928), GALTSOFF (1929), SARA et coll. (1956-1966), ont réalisé des agrégeats cellulaires mixtes avec des Eponges appartenant à des genres ou à des espèces différentes. Ils ont même tenté récemment des mélanges entre cellules de Spongiaires et de Cnidaïres

Sans négliger l'intérêt des premières phases de la réagrégation, la majorité des chercheurs ont cependant essayé de suivre dans le temps la reconstitution d'individus fonctionnels à partir de cellules dissociées. Ils se sont plus spécialement attachés à l'aspect histologique de la morphogénèse et à la dynamique cellulaire dans son ensemble.

Comme nous l'avons déjà signalé, le pionnier dans ce domaine est WILSON qui effectue, de 1907 à 1911, une série d'expériences sur l'Eponge siliceuse Microciona. HUXLEY (1911, 1921) aborde les mêmes problèmes chez l'Eponge calcaire Sycon coronatum, MULLER (1911) chez les Spongillidae (Spongilla lacustris et Ephydatia mülleri) et GALTSOFF (1926) chez Microciona. Les très beaux mémoires de FAURE-FREMIET (1932) sur Ficulina ficus, de BRØNSTED (1936) sur Spongilla lacustris et de BRIEN (1937) sur Ephydatia fluviatilis, nous apportent de nombreux et importants renseignements sur la réorganisation. TUZET (1945) étudie la formation des réseaux chez quelques Eponges calcaires et siliceuses. SIVARAMAKRISHNAN (1951) dissocie Callyspongia diffusa et GANGULY (1959) reprend l'étude d'Ephydatia. A partir de 1960, les résultats les plus intéressants reviennent à LEVI et BOROJEVIC qui ont réalisé une série d'expériences avec des Eponges acalcaires. En utilisant divers procédés de dissociation et en s'appuyant sur des études de microscopie électronique, ces deux auteurs ont envisagé les phénomènes de reconstitution chez Ophlitaspongia seriata, Ficulina ficus, Hymenacodon sanguinea, Mycale socotrana et Adocia elegans. Nous mentionnerons enfin, les publications de MOOKERJEE et coll. sur Ephydatia meyeri (1965), de YAZYKOV (1965) sur Ramiera cinerea, Handlonaria parvula et Ephydatia fluviatilis, de KIDO et coll. (1966), sur Callyspongia elongata.

Dans le cadre d'une étude générale sur les phénomènes de régénération, d'embryogenèse somatique et de reproduction asexuée

chez Tethya lyncurium, il nous a paru intéressant de tenter la reconstitution d'une Eponge fonctionnelle à partir de cellules dissociées . Il semble en effet indispensable d'étendre au maximum d'espèces ce type d'expérience, pour résoudre peu à peu les problèmes soulevés par cet aspect de la biologie des Spongiaires . Seule la convergence d'une majorité d'opinions sur des points précis de la reconstitution peut faire jaillir la lumière . La question n'est plus de savoir, aujourd'hui, si les cellules dissociées de l'adulte reprennent leur fonction dans l'individu réorganisé ou si elles subissent une dédifférenciation intégrale leur conférant la nature d'archaeocytes totipotents . Les travaux antérieurs permettent de rejeter cette deuxième hypothèse mais il est encore difficile de savoir si toutes les cellules de l'adulte sont réutilisées pour former la nouvelle Eponge, quel est le degré de leur dédifférenciation et surtout quel est le rôle des archaeocytes dans la régénération . Tous ces problèmes nous ont poussé à entreprendre une série de dissociations de Tethya .

SARA et ses collaborateurs (1965, 1966) sont les seuls, à notre connaissance, à avoir essayé de réaliser la même expérience sur la même espèce . Le but de ces auteurs étant essentiellement d'observer le comportement d'agrégats cellulaires mixtes, leurs résultats ne se recoupent en rien avec les nôtres .

Comme l'ont fait judicieusement remarquer BOROJEVIC et LEVI, " la réussite d'une réorganisation après dissociation varie considérablement suivant les espèces et un très grand nombre d'Eponges dissociées ne forment parfois qu'avec difficulté des sphérules de réorganisation " . Aussi avons-nous considéré, après une série d'échecs, qu'un tel processus était impossible chez Tethya . Une telle conclusion se trouvait appuyée par une autre constatation déjà

mentionnée, à savoir qu'un fragment de choanosome isolé ébauche une cicatrisation mais dégénère rapidement et ne redonne pas une Eponge normale . Sans infirmer notre première impression sur l'insuccès d'une reconstitution durable à partir de cellules du choanosome dissociées, nous devons aujourd'hui signaler l'existence possible d'un début de réorganisation qui aboutit à l'obtention d'un individu malheureusement destiné à une mort précoce .

II - ETAT DE LA SUSPENSION CELLULAIRE IMMEDIATE- MENT APRES LA DISSOCIATION .

Nous avons précisé, au début de ce travail, les caractères cytologiques des principaux types cellulaires rencontrés chez une Tethya adulte . Toutes ces cellules se retrouvent, dans des proportions variables, à l'intérieur d'une suspension provenant de l'Eponge désintégrée, mais la dédifférenciation morphologique qui fait suite au traumatisme, gêne souvent leur détermination pratiquée sur le vivant ou sur des frottis colorés . La plupart des éléments affectent, en effet, une forme grossièrement sphérique ou, à la rigueur, amoeboïde .

Les choanocytes, très nombreux, ont perdu la collerette et la plupart du temps, le flagelle . Leur taille oscille autour de $4\ \mu$, le diamètre de leur noyau ne dépassant pas $1,5$ à $2\ \mu$. Quelques uns, réunis en petits groupes, dénotent une désintégration imparfaite des corbeilles vibratiles .

Les polyblastes, à rapport nucléo-plasmatique élevé et cytoplasme clair ainsi que les archaeocytes chargés d'inclusions, sont également en nombre appréciable .

Pinacocytes et collencytes ne peuvent être distingués et sont assez rares .

Les cellules sphéruleuses et les lophocytes, faciles à repérer grâce à leurs inclusions et à leur taille, sont en faible nombre, ce qui est assez normal car la dissociation intéresse ici le choanosome . Or ces deux catégories sont nettement plus abondantes dans le cortex que dans la moelle .

Des amoebocytes de tailles diverses représentent certainement, par suite de la dédifférenciation provisoire et partielle, un état morphologique commun aux collencytes, pinacocytes et amoebocytes s. s.

Quelques éléments et de rares cellules germinales sont parfois disséminés dans la multitude des autres éléments .

III - AGREGATION DES CELLULES ET FORMATION DES MASSES DE RECONSTITUTION .

A - Comportement d'ensemble des cellules dissociées .

Les cellules de Tethya dissociées dans l'eau de mer, commencent rapidement à se déposer pour former une couche homogène, plus ou moins épaisse selon la concentration primitive de la suspension . Elles s'unissent en même temps les unes aux autres suivant des modalités encore difficiles à interpréter et le dépôt, initialement uniforme, prend peu à peu un aspect granité, bien visible au bout de 5 h. (Pl. XI B) . Le regroupement des cellules s'accroît pendant les heures qui suivent et des masses de plus en plus importantes s'individualisent, entourant des espaces clairs qui correspondent au fond dénudé des boîtes de Pétri . (Les cellules adhèrent, en effet, beaucoup plus facilement entre elles qu'elles n'adhèrent au support) . Ainsi s'établissent les fameuses figures " en réseaux ", décrites par plusieurs auteurs et dont les aspects varient avec la concentration du filtrat initial . Les mailles, petites et nombreuses au début, ne tardent pas à fusionner . Les travées les plus épaisses ont tendance à s'accroître encore et à se raccourcir ; elles exercent une forte traction sur les plus minces qui finissent par se rompre . Les extrémités libres de ces fines

travées, situées à proximité du point de rupture, reculent peu à peu vers leur point d'attache . Deux mailles situées côte à côte peuvent ainsi voir leur séparation diminuer d'importance et ne représenter, à la limite, qu'un pont cellulaire clair, tendu à l'intérieur d'une maille plus grosse . Au fur et à mesure, les mailles grandissent, leur nombre diminue, et le réseau se désintègre, laissant au fond des boîtes des travées arborescentes . Celles-ci se rompent en masses globuleuses ou, plus rarement, se condensent sous forme d'un large disque .

Comme l'a fait remarquer FAURE-FREMIET chez Ficulina, les agglutinats évoluent vers une forme à surface libre minimum, la forme sphérique constituant un état d'équilibre .

La zone périphérique de la " culture ", située contre la paroi verticale des boîtes de Pétri, est toujours plus dense que la partie centrale et le nombre de mailles est plus faible à ce niveau . Il arrive parfois que le réseau s'arrête d'évoluer à un stade précoce et que les sphérules de reconstitution ne se forment pas .

Notons, enfin, qu'au cours de la sédimentation, des cellules se fixent sur les parois verticales des boîtes et forment, à ce niveau, sans passer par l'état de réseau, de petites masses sphériques très favorables à un développement ultérieur .

Nous avons donné sur la planche XI quelques photos des réseaux au bout de 24 h., 48 h. et 10 jours, dans le cas d'une suspension non diluée (A, D, F) ou diluée au tiers (C, E, G) . Dans le premier cas, les travées cellulaires, après 24 h., sont compactes et irrégulières . Les mailles grandissent fortement entre le premier et le deuxième jour mais on n'obtient jamais de petites masses bien individualisées, favorables à la reconstitution d'une Eponge . Par suite

d'une forte rétraction, le réseau n'arrive qu'à une distance de 4 à 5 mm des parois de la boîte .Il est limité par une sorte de bourrelet épais et continu .

C'est sur les cultures à forte densité cellulaire que se développent le plus rapidement des organismes étrangers qui gênent la survie des cellules, en particulier des Algues (Cyanophycées et Diatomées) et des Ciliés .

Avec une dilution au tiers, l'évolution est au contraire beaucoup plus régulière . Les travées du réseau ont une épaisseur à peu près constante au bout de 24 h. . Les mailles grandissent sensiblement entre le premier et le deuxième jour et les travées se rompent peu à peu en masses plus petites, susceptibles d'évoluer positivement. Le réseau atteint dans ce cas la périphérie des boîtes de culture .

B - Marche de la réagrégation .

Comment les cellules dissociées entrent-elles en contact ? Quelles sont les plus actives ? Certaines catégories sont-elles éliminées d'emblée ? Nous avons essayé, pour répondre à ces trois questions, d'observer sur lame, à la loupe binoculaire ou au microscope, quelques gouttes d'un filtrat très dilué . Ce dernier présente un comportement tout à fait semblable à celui décrit par TUZET en 1945 chez plusieurs Eponges calcaires et siliceuses : de petits agrégats sphériques ou irréguliers entrent en contact pour former des ensembles plus importants

Contrairement à ce que pensent beaucoup d'auteurs, les choanocytes présents en majorité dans la suspension cellulaire prennent une part active, bien que faible, dans la réagrégation . Grâce à la persistance de leur flagelle pendant un certain temps, ils peuvent se déplacer

et entrer en contact avec leurs semblables ou avec d'autres cellules . Ils sont même capables de faire tourner sur eux-mêmes des amas hétérogènes . De plus, si le flagelle disparaît avec la collerette, les choanocytes peuvent encore user de mouvements amoeboïdes de faible amplitude qui facilitent les rencontres .

GALTSOFF et GANGULY opérant sur des Eponges dont les cellules flagellées n'ont peut-être pas la même activité ont nié l'existence de tels mouvements .

Les archaeocytes et les amoebocytes se déplacent sur le support en déformant leur corps mais leur progression n'a rien de comparable avec celle décrite chez d'autres espèces . Les lophocytes s'insinuent entre des groupes déjà formés alors que les cellules sphériques demeurent passives comme de petites morulas remplies de corpuscules réfringents .

Malgré leur importance qui n'est pas négligeable, tous ces mouvements ne jouent, à notre avis, qu'un rôle très secondaire dans la réagrégation des cellules dissociées . Il faut tenir compte en premier lieu des facilités de rencontre liées au hasard dans un volume réduit d'eau de mer où les cellules sont en nombre considérable . C'est ainsi que beaucoup d'éléments entrent en contact au cours de la sédimentation, avant même d'avoir atteint le support . D'autre part, comme le fait remarquer BRIEN, " sur le fond des boîtes de Pétri, les cellules se disposent côte à côte et forment un dépôt continu . L'adhérence entre elles est donc facile, fatale et presque immédiate" .

Aussi peut-on assister, au départ, à une réunion désordonnée de cellules qui glissent les unes sur les autres, et ne manifestent que secondairement une adhésivité spécifique . Celle-ci semble jouer par la suite un rôle plus important en déterminant une sélection des asso-

ciations : les choanocytes, par exemple, auront tendance à s'accoler plus facilement entre eux qu'ils ne le font avec d'autres catégories .

A l'exception des fragments de cellules déchirées qui ne sont pas intégrés dans les amas (sauf s'ils sont préalablement phagocytés), tous les éléments, même les plus passifs prennent part à la constitution des agrégats . Le degré d'adhérence des cellules entre elles est cependant très variable suivant les catégories .

IV - ETAT DES CULTURES AGEES DE CINQ HEURES .

Si la morphogenèse de la jeune Eponge s'effectue progressivement à l'intérieur de petites masses sphériques, individualisées par fragmentation du réseau, la reconstitution proprement dite commence à l'intérieur du dépôt homogène . Tout en adhérant les unes aux autres, les cellules se mettent en place selon leurs affinités et un plan d'organisation apparaît rapidement . Quelques heures seulement après la dissociation, le dépôt cellulaire des boîtes de Pétri est limité, à sa partie supérieure (au contact de l'eau de mer) et inférieure (au contact du verre), par une couche protectrice de cellules en étroite cohésion. Comme le montre la figure 10, cette formation est à un stade précoce le seul signe de réorganisation visible . Si l'on examine in vivo un fragment de la couche limitante externe, on y observe des cellules disposées les unes contre les autres comme dans un épithélium et affectant une forme grossièrement polygonale . Beaucoup sont des pinacocytes qui ont repris leur place et leur fonction dans les premiers moments, mais la plupart contiennent des granulations intracytoplasmiques et un noyau nucléolé qui signent une origine archaeocytaire ou lophocytaire . L'épuisement des inclusions et la disparition du nucléole conduiront peu à peu vers des pinacocytes typiques . On peut d'ailleurs

observer ces derniers sur des coupes fixées et colorées formant une assise de cellules très étirées, avec un renflement médian au niveau du noyau .

A l'intérieur du dépôt, les diverses cellules sont disposées sans ordre et se séparent sous l'effet du fixateur ; elles ne fusionnent jamais entre elles . En outre, l'adhérence au support de l'ensemble est encore assez faible . Nous retrouvons les mêmes catégories que dans la suspension initiale, noyées dans une multitude de fragments de cellules ou d'éléments en dégénérescence . De rares mitoses s'observent dans les polyblastes . On remarque chez les choanocytes une nette augmentation de l'affinité du noyau pour la fuchsine dans la réaction de Feulgen, ce qui traduit une certaine modification des acides nucléiques . Nous avons déjà observé ce phénomène chez d'autres Eponges dissociées (Suberites domuncula, Ficulina ficus) en particulier lorsque l'on ajoute des antibiotiques à l'eau de mer . Certains choanocytes isolés, à noyau pycnotique, dégénèrent et sont souvent phagocytés par des polyblastes ou des archaeocytes, dont le cytoplasme augmente de volume et se charge d'inclusions . La cytolysse prend des proportions variables .

Quelques rares lophocytes sont suivis d'une traînée plus ou moins importante mais la synthèse du collagène n'a pas encore commencé, à ce stade, dans la plus grande partie de l'Eponge .

Au contact du verre, la limitante inférieure est formée de cellules très étalées, dont les contours sont peu nets et dont les noyaux nucléolés rappellent beaucoup ceux des archaeocytes. Cette assise doit correspondre à l'ébauche du " mésothélium basal " décrit par FAURE-FREMIET chez Ficulina ficus . Elle contient des archaeocytes qui se modifient, quelques lophocytes, mais presque pas de pinacocytes .



FIGURE 10. Aspect du dépôt cellulaire 5 h. après la dissociation (à gauche, formation d'un épithélium de recouvrement).

Am. : amœbocyte - Ar. : archaeocyte - Ar. ph. : archaeocyte contenant deux cellules récemment phagocytées - Ch. : choanocyte - Ch. d. : choanocyte dégénérant - C. sph. : cellule sphéruleuse - L. lophocyte - P. : pinacocyte - Po. : polyblaste.

A un stade plus avancé, la limitante inférieure aura à peu près la même constitution que la supérieure .

V - EVOLUTION DES CULTURES A PARTIR DE LA CIN- QUIEME HEURE .

Après la formation d'un épithélium de recouvrement, les cellules continuent à s'unir les unes aux autres de façon plus durable . Des agrégats d'importance variable s'isolent ainsi dans le dépôt initial et font peu à peu apparaître le réseau . Notons d'ailleurs que les travées limitant les mailles de ce dernier peuvent avoir un aspect continu et être en réalité formées d'une multitude d'agrégats juxtaposés dont l'existence est révélée par les coupes et l'histologie . A l'intérieur de ces amas, la majorité des éléments se groupent suivant leurs affinités .

A - Réapparition des choanocytes normaux et formation des corbeilles vibratiles .

Dès la dixième heure, un grand nombre de choanocytes sont regroupés, redifférenciés et forment des corbeilles dont les flagelles et les collerettes épanouies occupent la lumière (Fig. 11) . Dans la plupart d'entre elles, les choanocytes n'ont pas des rapports aussi étroits que chez les Eponges adultes . Ceci semble prouver qu'il y a eu surtout regroupement des cellules et non pas seulement passage de corbeilles entières, comme cela se produit parfois . Quelques unes restent encore différenciées pendant un certain temps et les mitoses sont assez fréquentes dans les choanocytes qui proviennent, à ce stade, de l'Eponge dissociée . Par la suite, des archaeocytes engendrent au niveau des corbeilles des cellules flagellées qui portent leur

marque d'origine sous forme de phagosomes . Des éléments intermédiaires rappellent des choanoblastes par leur taille supérieure à celle des choanocytes et par l'aspect de leur noyau plus gros et plus nettement nucléolé . La majorité des auteurs ont décrit la formation des corbeilles vibratiles un peu plus tard au cours de la reconstitution et SARA, notamment, ne les a observées qu'après 72 h. en réalisant des agrégats cellulaires mixtes entre Tethya et Anemonia .

L'apparition précoce du choanoderme dans nos expériences ne doit pas être interprétée comme une étape définitive et immuable . Il y a par la suite des remaniements, allant de pair avec l'évolution mécanique des agrégats sur leur support, qui peuvent causer une désintégration d'un système aussi rapidement établi . C'est au cours de cette deuxième phase que les archaeocytes interviennent dans la formation des choanocytes pour augmenter leur nombre et que les corbeilles prennent leur configuration définitive .

B - Aspect du mésenchyme .

Entre l'assise périphérique de pinacocytes et la région centrale où les choanocytes prédominent, se trouve un mésenchyme riche en archaeocytes et à un degré moindre en lophocytes . Leur forme est variable, allant de la cellule amoéboïde irrégulière à l'élément fusiforme plus ou moins parallèle à l'épithélium .

Les corbeilles vibratiles sont disséminées dans un amas d'archaeocytes à nombreuses granulations, de cellules sphéruleuses plus abondantes qu'au départ et d'amoébocytes divers serrés les uns contre les autres .

Polyblastes et archaeocytes manifestent, à ce niveau, un in-

tense pouvoir phagocytaire, absorbant aussi bien des débris cellulaires que des choanocytes entiers en voie de pycnose et des corps étrangers . Leur volume augmente, les éléments plus ou moins digérés persistent longtemps à l'intérieur de grosses vacuoles et, dans les cas extrêmes, ces cellules dégénèrent, le corps bourré de phagosomes, le noyau et le cytoplasme réduits à leur plus simple expression. Lorsque les noyaux des cellules absorbées ne sont pas encore digérés, ils contribuent à donner au phagocyte l'aspect d'un élément polynucléé . De telles figures ont fait penser à certains auteurs que le stade à plusieurs noyaux précédait la formation de nombreuses cellules à la suite d'une plasmodiérèse . D'autres ont même supposé que les phagocytes pourraient jouer le rôle de cellules charriantes . Les polyblastes à cytoplasme clair se raréfient et demeurent généralement sphériques . Certains amœbocytes ont des granulations éosinophiles très régulières, densément serrées les unes contre les autres .

C - Formation des lacunes et des canaux .

La présence de corbeilles vibratiles fonctionnelles au bout de 10 à 12 heures après la dissociation exige l'élaboration rapide d'un système canaliculaire permettant d'établir un courant d'eau au moins temporaire . Aux environs de la dixième heure, il y a certes des lacunes dans les agrégats mais rien ne paraît organisé .

Après 24 heures, au contraire, on note l'apparition à l'intérieur de chaque masse, d'espaces clairs ramifiés (Pl.XVII C), destinés à la circulation de l'eau . La structure des parois à peine ébauchée ne permet pas encore d'homologuer ce système aux canaux exhalants . Quelques cavités sont cependant bordées de pinacocytes alors que des archaeocytes et des lophocytes se disposent et s'étirent à la périphérie du réseau circulatoire . Comme dans l'épithélium

périphérique élaboré au cours des premières heures, les pinacocytes authentiques proviennent de l'Eponge-mère . Lophocytes et archaeocytes se transforment ultérieurement pour compléter leur nombre . GANGULY est semble-t-il le seul auteur qui ait observé rapidement dans le régénérat le début du futur système de canaux, sous forme de petits sillons apparaissant dès la sixième heure . FAURE-FREMIET, BRIEN et la plupart des autres chercheurs ne signalent ces ébauches que plus tardivement, à l'exception de quelques lacunes qui sont visibles très tôt . Si un complexe ramifié se forme chez Tethya au bout de 24 h., son apparition est certainement en rapport avec la redifférenciation précoce des corbeilles vibratiles . Comme ces dernières, un tel système est appelé à subir des modifications au cours du temps . Sa présence dès le début de la réorganisation évite peut-être une dégénérescence de la partie centrale, les échanges nutritifs et respiratoires étant gênés dans une masse compacte . Certains éléments comme les bourgeons ont une constitution mieux adaptée à un mode de vie difficile et peuvent rester massifs pendant une période plus ou moins longue . Ici au contraire, la majorité des cellules retrouvent rapidement leurs propriétés physiologiques, ce qui implique le prompt rétablissement du métabolisme normal .

D - Fixation des sphérules .

Plus tard, les sphérules isolées à partir du réseau se fixent solidement, s'aplatissent et chacune d'elles ébauche la reconstitution d'une Eponge . La fixation est assurée par la couche limitante basale qui apparaît très tôt au contact du verre et surtout par des expansions formées de cellules qui prennent une direction centrifuge . Ces éléments sont tout à fait semblables, mais à l'échelle microscopique, à ceux que l'on observe à la base des Tethya dans la nature .

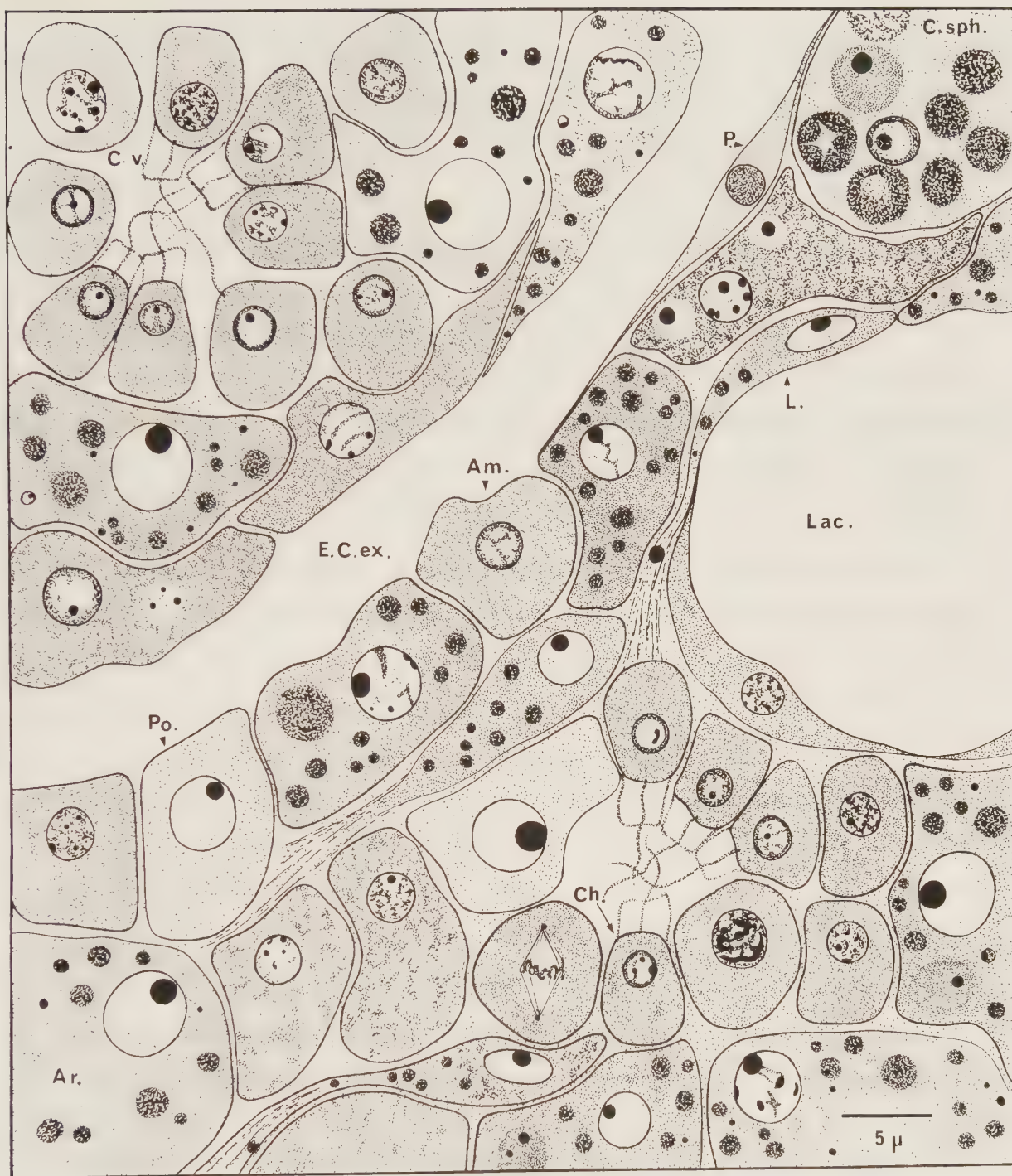


FIGURE 11. Etat d'une "culture" âgée de 24 h.

Am. : amoebocyte - Ar. : archaeocyte - C.v. : corbeille vibratile - Ch. : choanocyte -
 C. sph. : cellule sphéruleuse - E.C.ex. : ébauche de canal exhalant - L. : lophocyte -
 Lac. : lacune - P. : pinacocyte - Po. : polyblaste.

On trouve à leur niveau beaucoup de lophocytes, des archaeocytes, quelques cellules sphéruleuses entraînées dans le mouvement et des pinacocytes . Les lames fixatrices des sphérules diffèrent cependant des expansions de l'adulte par l'absence totale de spicules . Elles ressemblent beaucoup à la zone marginale d'une culture de tissus .

La fixation au substrat est une condition nécessaire au développement normal d'une Eponge . Lorsqu'on met en expérience des fragments d'adulte, ils cicatrisent, se referment si cela est possible, émettent des filaments fixateurs et réorganisent ensuite leurs tissus internes . Le même phénomène se produit quand un bourgeon se détache de sa souche : s'il reste libre sur le fond, son développement s'arrête mais s'il se fixe au support, il reprend son évolution normale . Dans le troisième cas qui nous intéresse ici, la fixation est encore nécessaire surtout par sa conséquence directe : l'étalement de la sphérule . Celui-ci n'est cependant pas aussi important que l'affaïssissement observé par BRIEN chez Ephydatia et par FAURE-FREMIET chez Ficulina .

E - Reconstitution du squelette .

Pendant que les diverses catégories cellulaires se mettent en place et que se reconstituent corbeilles et canaux, le squelette organique commence à être élaboré . Si l'on ne trouve pas, comme dans une Tethya adulte ou un bourgeon, de vastes plages de substance interstitielle ou des lophocytes suivis d'un volumineux panache, du collagène est cependant décelable . Des éléments fusiformes ou étoilés ont leurs extrémités prolongées par des fibres et la cohésion des masses ne repose plus seulement sur l'adhérence des cellules entre elles . Comme la genèse du collagène s'accompagne souvent d'une

désintégration assez poussée des cellules qui l'engendrent, les limites cellulaires disparaissent parfois . On se trouve alors en présence de noyaux épars au milieu de fibrilles et de granulations, le tout prenant l'aspect d'un syncytium .

Quelques scéroblastes contenant un petit style proviennent directement de l'Eponge souche de même que des cellules-mères d'asters, à cytoplasme clair et petit noyau .

On observe à partir de ce stade et pendant plusieurs jours, une certaine stagnation de l'activité morphogénétique, la plupart du temps suivie d'une dégénérescence rapide . Quelques sphérules ont cependant continué à évoluer normalement pendant une dizaine de jours mais n'ont jamais donné de véritable Eponge fonctionnelle .

VI - INVOLUTION DES AGREGATS .

Beaucoup de choanocytes présentent, au bout de 4 à 5 jours, un noyau dense, presque pycnotique et un cytoplasme à grandes vacuoles . Les corbeilles vibratiles se disloquent . Les archaeocytes manifestent une activité phagocytaire de plus en plus importante et périssent souvent, victimes de leur fonction.. Leur proportion augmente considérablement aux dépens des autres catégories, en particulier des choanocytes . D'autres cellules subissent la même régression avec un cytoplasme qui se vacuolise et un noyau qui entre en pycnose . Toujours entourée par un épithélium de pinacocytes, la sphérule redevient compacte, le système de canaux se désintègre .

Peu de temps après, l'épithélium se rompt et une grande différence apparaît entre la zone centrale et la zone périphérique . La première conserve encore des cellules en bon état et en étroite

cohésion alors que la deuxième est formée de déchets, d'organismes étrangers et de débris cellulaires .

Aux environs du dixième jour, les Ciliés envahissent les cultures dont il ne reste plus que des cellules bourrées de corps phagocytés et quelques archaeocytes à granulations plus fines .

VII - CONCLUSION .

Comme nous l'avons relaté dans le chapitre précédent, il est parfois possible d'obtenir la reconstitution d'Eponges normales à partir de fragments de Tethya d'importance variable, par un véritable phénomène d'embryogenèse somatique (au sens de TOKIN) . La désintégration des tissus envisagée ici, permet de confirmer certains résultats et de noter quelques différences liées à la nature du traumatisme initial .

1. En accord avec la majorité des auteurs actuels, nous pensons que la reconstitution d'Eponges à partir de cellules dissociées, fait appel à toutes les catégories cellulaires de l'individu-souche, un complément étant fourni par la suite, par les éléments totipotents . C'est donc en premier lieu un phénomène de morphallaxis au cours duquel se trouve stimulée la fonction polygénératrice des archaeocytes . La plupart des formes de reproduction asexuée font intervenir un seul type de cellules (gemmules de Spongillidae) ou un faible nombre (bourgeons de Tethya) . L'embryogenèse somatique, au contraire, si le traumatisme qui lui donne naissance est suffisamment important, utilise d'emblée toutes les catégories . Les cellules totipotentes n'interviennent qu'en second lieu, leur différenciation étant induite dans un sens ou dans un autre par l'excès ou le défaut de certains éléments .

La dédifférenciation morphologique causée par la désintégra-

tion des tissus gêne la reconnaissance des cellules dans la suspension initiale mais ne l'empêche pas comme l'ont affirmé beaucoup d'auteurs. Cette dédifférenciation n'est que partielle et provisoire : elle n'entraîne aucun changement physiologique . Les cellules peuvent ainsi reprendre rapidement leur fonction si elles retrouvent la position qui leur convient .

2. La mise en place du matériel cellulaire de l'Eponge-souche est en effet la première phase de la reconstitution . Elle est favorisée par l'activité migratrice de la plupart des éléments, qui est une conséquence de la désintégration mécanique initiale . Au départ, les rencontres entre cellules sont fortuites et l'agrégation est désordonnée . Par la suite, des migrations s'effectuent dans l'agrégat et l'adhésivité spécifique intervient secondairement pour réunir les cellules de même catégorie .

3. La reconstitution ne s'effectue que si les cellules s'unissent entre elles dans le dépôt initial pour engendrer un réseau qui se scinde à son tour en sphérules . La concentration de la suspension initiale a, dans ce phénomène, un rôle prépondérant .

4. La première étape de la morphogenèse est la constitution d'une couche protectrice séparant de l'eau de mer les cellules agrégées . Il s'agit d'un simple épithélium de pinacocytes typiques provenant de l'Eponge-souche ou d'éléments qui dérivent de lophocytes et d'archaeocytes comme l'indique la persistance temporaire d'un noyau nucléolé . Cette assise constitue, vis-à-vis du milieu extérieur, une barrière qui devra être ultérieurement renforcée par l'arrivée d'autres cellules, établissant une écorce provisoire entre la masse interne en réorganisation et l'eau de mer environnante . Une couche protectrice identique apparaît autour des bourgeons naissants ou à la surface de section d'une Eponge fraîchement coupée .

5. L'apparition des corbeilles vibratiles est très rapide et résulte du regroupement de choanocytes partiellement dédifférenciés (perte de la collerette et du flagelle) . Certains dérivent plus tard des archaeocytes : leur cytoplasme contient alors un ou deux phagosomes et leur noyau nucléolé est plus gros que normalement .

6. L'existence précoce de corbeilles fonctionnelles rend nécessaire l'élaboration d'un système de canaux . Celui-ci apparaît initialement comme un ensemble de lacunes ramifiées, bordées de quelques pinacocytes et surtout de lophocytes et d'archaeocytes . Endo- et exopinacoderme ont la même origine .

7. La fixation des sphérules au support est une condition nécessaire à la suite du développement . Elle est assurée par la couche basale de l'agrégat qui ressemble progressivement à l'épithélium supérieur et par des expansions latérales plus ou moins développées .

8. Nous avons noté dans le chapitre précédent que des fragments de choanosome seul essayaient de fabriquer un tissu cicatriciel mais manquaient de lophocytes, beaucoup plus nombreux dans l'écorce que dans la moelle . Or, nous sommes ici en présence d'une suspension de choanosome dans laquelle les éléments de type fibroblastes sont assez rares . Cette pauvreté se fait sentir à deux niveaux : à la périphérie d'abord, où ne peut se former une zone pluristratifiée, ébauche du cortex et au coeur même des agrégats où la réalisation d'une trame mésenchymateuse de base ne peut s'effectuer convenablement . BO-ROJEVIC et LEVI (1965 - 1966) ont insisté sur le rôle important joué par les collencytes (" qui se comportent comme des fibroblastes typiques ") dans l'établissement d'une structure de base au cours de la reconstitution d'Eponges à partir de cellules larvaires dissociées . Comme ces auteurs, nous considérons l'élaboration du squelette organique support du futur individu, comme une des premières phases

indispensables à la morphogenèse . Nous avons observé la même nécessité dans l'évolution des bourgeons et, chez les Eponges calcaires, dans les agrégats de Sycon raphanus âgés de quelques jours .

Pourquoi les archaeocytes ne prennent-ils pas le relais et n'engendrent-ils pas, comme ils le font dans de nombreuses circonstances, une quantité suffisante de fibroblastes ? La question paraît difficile à résoudre en l'état actuel de nos connaissances . La principale activité des archaeocytes, à l'intérieur des sphérules, est de phagocyter les déchets et débris cellulaires . Ils absorbent de même les choanocytes dégénérescents ou peut-être en excès afin, semble-t-il, de réaliser un équilibre . Des pinacocytes et des lophocytes se forment certes à leurs dépens mais de façon assez limitée . Contrairement à ce qui se produit dans les bourgeons, les archaeocytes ne participent pas directement à la fibrogenèse . Peut-être leur nombre est-il insuffisant (d'autant plus que leur division est assez rare) pour assumer toutes les fonctions . De plus, la caractéristique des cellules dissociées paraît bien être leur impossibilité de se différencier complètement et de se redifférencier par la suite, selon les besoins . Dans le cas d'une désintégration aussi poussée, le nombre de polyblastes (" carrefours de la dynamique cellulaire " au sens de TUZET et PAVANS DE CECCATTY) ne semble pas susceptible d'augmenter beaucoup, par une autre voie que la division cellulaire . C'est là pensons-nous, une différence importante entre l'embryogenèse somatique à partir d'un fragment du corps et celle qui se produit à partir de cellules complètement dissociées . Dans le premier cas, en effet, nous avons toujours noté un accroissement du nombre des polyblastes aux dépens d'autres catégories cellulaires (même des choanocytes) et, en conséquence, une augmentation du nombre des archaeocytes .

Il faut enfin signaler, dans le cas précis de notre expérience, que beaucoup d'archaeocytes victimes de leur fonction phagocytaire,

s'hypertrophient et dégénèrent . Ce sont les derniers à persister dans une culture en involution, mais leur activité semble paralysée et ils sont incapables, dans de telles conditions, de se regrouper et de redonner une Eponge .

C H A P I T R E I V

ETUDE DU BOURGEONNEMENT NATUREL ET

" EXPERIMENTAL "

I - HISTORIQUE .

C'est semble-t-il T. HUXLEY, en 1851, qui fait la première allusion au phénomène de reproduction asexuée chez Tethya lyncurium . De 1862 à 1872, BOWERBANK signale à plusieurs reprises, dans ses travaux, l'existence de bourgeons dans le genre Tethya et surtout dans l'espèce lyncurium . Selon lui, ces formations dériveraient de l'agglomération de sarcode (= protoplasme) à l'extrémité d'un faisceau de spicules faisant saillie à la surface de l'Eponge . L'auteur les qualifie parfois de gemmules . Elles contiendraient des spicules maternels et d'autres qui lui seraient propres . SCHMIDT (1868) confirmant les observations précédentes, précise que les longs spicules et les asters se formeraient avant la différenciation d'une zone corticale . Quelques années plus tard (1875), il établit un parallèle entre les bourgeons externes de Tethya et ceux de Suberites . L'étude de Tethya norvegica (aujourd'hui homologuée avec T. lyncurium) permet à MEREJKOWSKY, en 1879, d'apporter des précisions intéressantes d'ordre morphologique et d'appuyer la théorie syncytiale de la nature du bourgeon . La même année, DEZSÖ décrit deux sortes d'éléments asexués : certains de 1 mm de diamètre dépourvus de système aquifère, d'autres de 2 mm, avec un système aquifère bien développé et des pores inhalants . Il n'est plus question ici de syncytium et l'auteur signale la présence de cellules épithéliales, de cellules-mères de sphérasters et de cellules fibreuses . Les bourgeons auraient une origine corticale et proviendraient de la division d'une seule cellule . En 1880, SELENKA étudie le bourgeonnement d'une Eponge exotique, Tethya maza . Le matériel cellulaire dérive-

rait, d'après lui, des cellules étoilées ou fusiformes du cortex qui se transformeraient en cellules à petites et à grosses granulations . Le parenchyme interne donnerait naissance aux corbeilles vibratiles ; les cavités subcorticales à revêtement endothélial se formeraient pendant la sortie du bourgeon . Celui-ci serait, au moment de son détachement, semblable à une Eponge normale, mais sans oscule et cavités subdermales . Selon SOLLAS (1888), les "formations externes" de Tethya seychellensis et Tethya japonica ne présentent pas de cavités et ont la même structure que le cortex maternel . Les amas corticaux de T. lyncurium seraient, soit des "oeufs segmentés", soit des "bourgeons internes" . Ces amas corticaux de cellules granuleuses sont à nouveau signalés et décrits par LENDENFELD en 1898 . L'auteur parle de formes de transition entre cellules à petites et à grandes granulations et décrit également des capsules chitineuses de 0,1 mm de diamètre, remplies d'éléments semblables et privées de spicules, qui seraient des bourgeons en incubation . Le travail de TOPSENT (1900) ne révèle rien de nouveau mais suggère une origine composite des sorites : amas de cellules granuleuses des verrucosités, cellules ectodermiques, scléroblastes . Les cellules granuleuses seraient identiques à celles des gemmules d'autres Eponges . Les capsules chitineuses mentionnées par LENDENFELD correspondraient à un deuxième mode de multiplication asexuée . En dépit des renseignements laconiques et contradictoires apportés par les travaux précédents, il faut attendre l'étude de MAAS, en 1901, pour se faire une idée précise de ce type de reproduction . Abordant l'anatomie et l'histologie sous un angle nouveau et détaillé, l'auteur conclut que le matériel du bourgeon provient de certains archaeocytes indifférenciés mais que le processus de différenciation n'est exactement délimité, ni dans le temps, ni dans l'espace . Il est ainsi impossible de trouver des bourgeons prêts à sortir, encore compacts et composés d'archaeocytes . On ne peut cependant pas considérer ces formations comme de simples excroissances de l'Eponge mais comme des ensembles d'origine archaeocytaire dont la différenciation est souvent ébauchée avant leur sortie du cortex . MAAS observe des amas corticaux d'archaeocytes, interprète la spiculogenèse et décrit les cellules dites de "transition", considérées comme des étapes entre les éléments à potentialités multiples et les catégories cellulaires définitives . Les mitoses sont, pour lui, le moyen de multiplication le plus courant, surtout au moment de la formation des choanocytes . Malgré de nombreux efforts, MAAS n'est jamais arrivé à obtenir le développement de bourgeons en captivité . Son étude repose sur l'observation d'un ensemble de petites Tethya, prélevées dans leur milieu naturel à divers stades de développement et supposées issues de sorites . CHERFELS, en 1953, suggère l'existence de deux va-

riétés de Tethya présentant de légères variations morphologiques et squelettiques et de trois sortes de bourgeons dont l'histologie traduit des différences de nature . N'ayant noté aucune évolution au cours des dix-huit mois d'élevage, l'auteur hésite à se prononcer sur leur véritable signification .

II - VARIATIONS DU BOURGEONNEMENT DANS LA NATURE.

Avant d'étudier la formation et le développement des bourgeons que nous avons envisagés dans un cadre expérimental, il nous a paru intéressant de replacer le bourgeonnement dans le cycle biologique annuel de l'Eponge et de considérer au passage les liaisons pouvant exister entre la reproduction asexuée et certains caractères morphologiques des individus qu'elle intéresse .

Très peu d'auteurs se sont penchés sur ce problème et leurs résultats ne sont généralement fondés que sur de rares observations. C'est ainsi que TOPSENT, dans son étude monographique des Eponges de FRANCE (1900), prétend que le bourgeonnement semble plus important durant l'été et l'automne, mais il émet toutefois des réserves . BURTON (1948), faisant le point sur cette question à partir de données bibliographiques ou d'observations personnelles, signale trois spécimens de la Manche porteurs de bourgeons en Mai . Il note également une augmentation du nombre moyen de bourgeons par individu, de Juin à Septembre, dans l'Atlantique-nord (collection du Muséum de Trondheim) et cite quelques chiffres tendant à prouver que le bourgeonnement est plus important en Septembre qu'en Novembre en Méditerranée . Le même auteur déclare enfin, que tous les échantillons récoltés en Afrique du Sud en Novembre et Janvier, ne présentent aucune signe de bourgeonnement .

Ces remarques, ne reposant que sur un petit nombre de

specimens, n'apportent rien de concluant et sont souvent en contradiction avec nos résultats .

Pour nous faire une opinion valable sur cette question, nous avons observé plusieurs milliers d'individus récoltés tous les mois, pendant plusieurs années dans la région de SETE . Ces échantillons provenaient de chalutages sur les fonds à Microcosmes dont la profondeur est relativement faible (80 à 100 m) . A un tel niveau, les variations saisonnières de température et de luminosité sont sensibles et peuvent expliquer en partie le déclenchement du bourgeonnement . On sait en effet, que d'une manière parallèle, ces deux facteurs interviennent souvent, dans le règne animal pour faire apparaître la sexualité .

Nous avons envisagé successivement et concrétisé par des tableaux ou des histogrammes, les points suivants :

1. Variations du pourcentage d'individus bourgeonnants en fonction des mois .
2. Variations du nombre moyen et maximum de bourgeons par individu et par mois .
3. Variations de la taille moyenne des individus sans bourgeons ou porteurs de bourgeons .
4. Variations du pourcentage d'individus bourgeonnants en fonction de la couleur de l'Eponge .
5. Localisation du bourgeonnement .

A - Variations du pourcentage d'individus bourgeonnants en fonction des mois .

Un simple coup d'oeil sur l'histogramme représentant les variations du pourcentage d'individus bourgeonnants en fonction des

mois (Fig. 12) permet de noter les très grandes différences entre certaines périodes de l'année . Pendant quatre mois (Octobre, Novembre, Décembre et Janvier), plus de 50 p. 100 des Tethya observées sont porteuses de bourgeons, avec un maximum en Décembre (74 p. 100) . Cette période correspond en gros à l'automne et à une partie de l'hiver . Comme nous n'avons tenu compte que des bourgeons bien formés et rattachés à l'Eponge-souche, les chiffres que nous avançons sont certainement inférieurs à la réalité . Pendant la période de bourgeonnement intense, en effet, beaucoup d'éléments sont en formation (prolongements filamenteux ou apophyses coniques étirées) et beaucoup se détachent au fur et à mesure, laissant un pédoncule à la surface du cortex . Si nous faisons état de ces deux types de manifestation, les pourcentages fournis seraient donc bien supérieurs .

Pendant sept mois (de Février à Août), le pourcentage de reproduction asexuée est inférieur à 30 p. 100 . Septembre, qui marque le début du refroidissement des eaux voit ce pourcentage augmenter notablement par rapport à Août (de 14,3 à 42,8 p. 100) . Les trois mois où le bourgeonnement est le plus faible sont Mai, Juin et Juillet (moins de 6,5 p. 100) . Il est curieux de constater que cette période correspond exactement à celle au cours de laquelle DEZSÖ (1879) a trouvé des spermatozoïdes et des oeufs dans les Tethya, c'est à dire à la période de reproduction sexuée . LEVI (1956) a d'ailleurs confirmé en partie cette constatation au sujet de l'ovogenèse .

Il semble donc que le bourgeonnement et la sexualité s'excluent presque totalement dans la nature .

BRIEN a rapporté plusieurs fois le même phénomène au sujet des Hydres maintenues en élevage et, malgré la très grande diffé-

rence existant entre les bourgeons d'une Hydre et ceux d'une Tethya, l'alternance des phases sexuées et asexuées peut être comparée dans le deux embranchements . En faisant varier les conditions ambiantes, au laboratoire, cet auteur conclut que la blastogenèse augmente lorsque la nourriture est abondante et la température assez élevée (16 - 18°) . Il note par contre, que les gemmules de Spongillidae se constituent presque toute l'année, mais en quantité extrêmement abondante au début de l'automne dans les régions tempérées . C'est à ce deuxième type de reproduction asexuée qu'il faut, semble-t-il, rattacher le bourgeonnement de Tethya en ce qui concerne l'influence des conditions climatiques .

B - Variations du nombre moyen et maximum de bourgeons par individu et par mois .

Le nombre moyen de bourgeons par individu varie à peu près de la même manière que le nombre d'individus bourgeonnants . Comme le montre la partie grisée de l'histogramme (Fig. 13), il est élevé d'Octobre à Janvier, très faible de Mai à Juillet . Le maximum (21,2 bourgeons/individu) est atteint en Novembre, le minimum (2,5) en Juin . Nous avons porté sur le même histogramme, le nombre moyen et le nombre maximum de bourgeons par individu et par mois . La deuxième valeur ne concernant qu'un seul spécimen n'est pas, à priori, très représentative et l'on constate cependant que ses variations correspondent à peu près à celles des nombres moyens . Deux individus portant 180 bourgeons ont été trouvés en Octobre et Novembre alors que le nombre maximum de Juin est seulement de 4 .

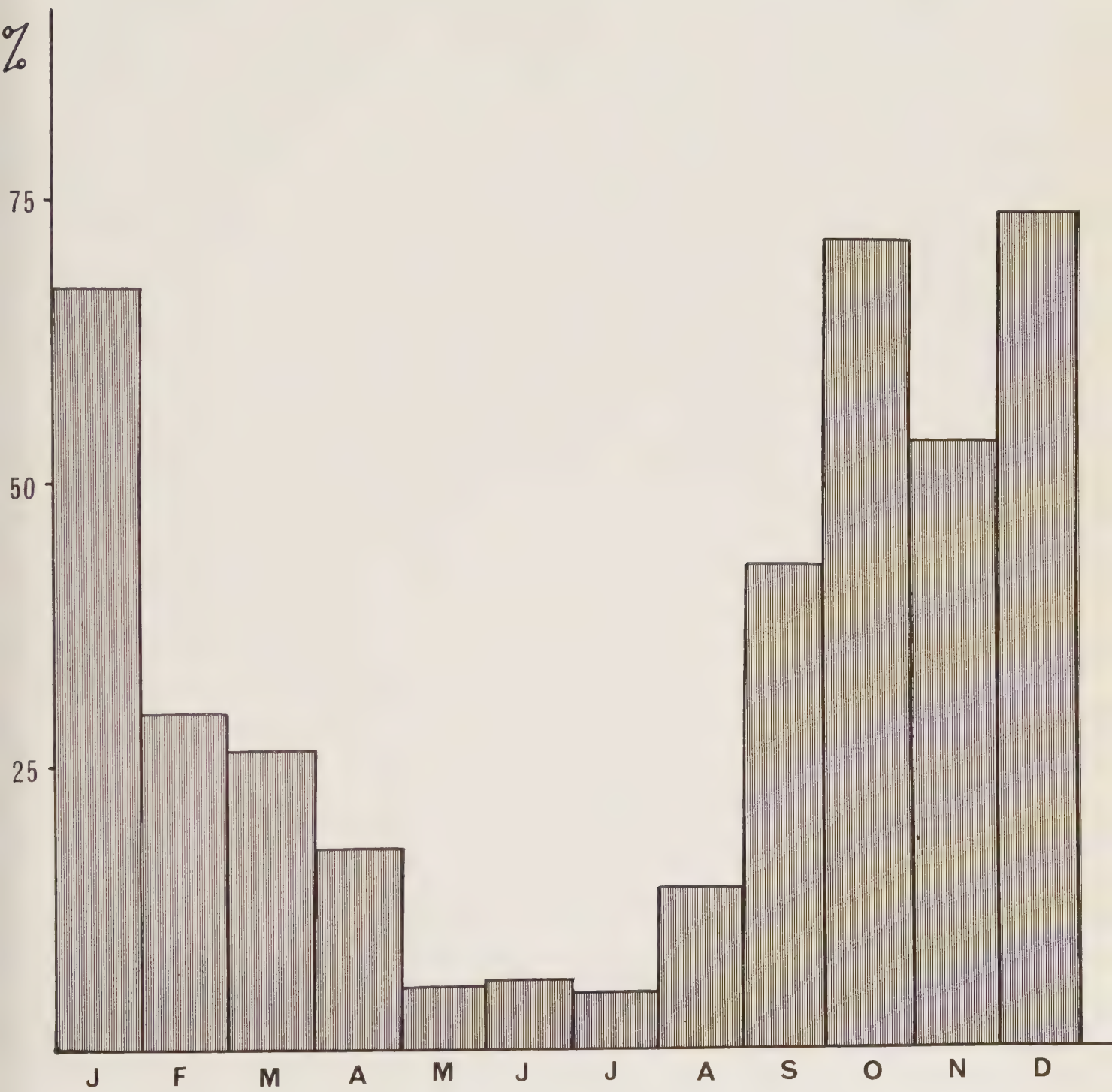


FIGURE 12 . Pourcentage d'individus bourgeonnants en fonction des mois.

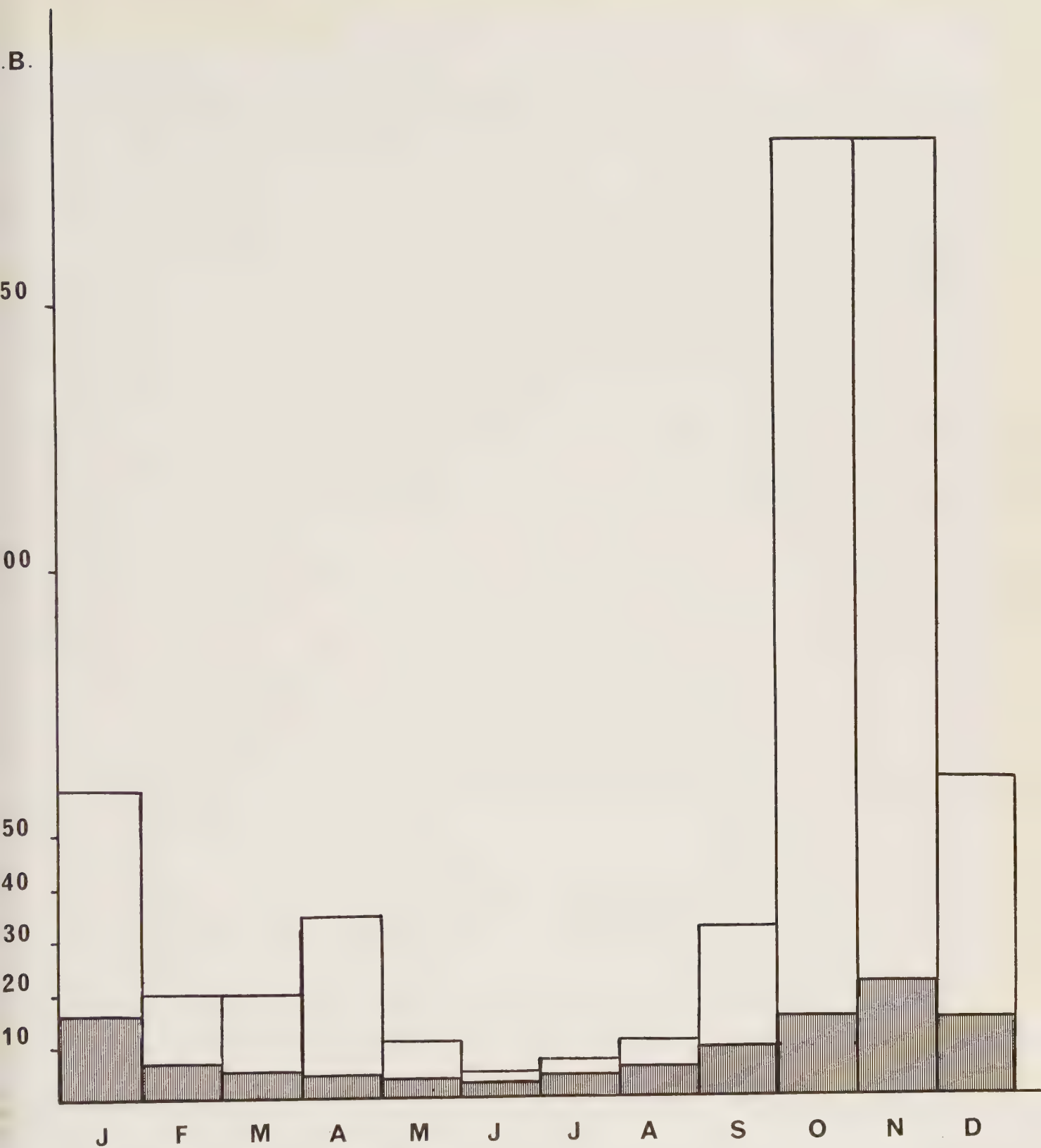


FIGURE 13 . Nombre moyen (en gris) et nombre maximum (en blanc) de bourgeons par individu et par mois.

C - Variation de la taille moyenne des individus sans bourgeons ou porteurs de bourgeons . (Tableau p. 111) .

A l'exception du mois de Juin où les rares spécimens en bourgeonnement étaient de faible taille (phénomène certainement lié au hasard), on constate que tout au long de l'année, le diamètre moyen des individus porteurs de bourgeons est supérieur à celui des individus sans bourgeons . Cette différence est encore accentuée, si l'on tient compte du volume représenté par la masse globale des bourgeons qui diminue d'autant le diamètre des individus générateurs .

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cet accroissement :

- distension d'ensemble de l'Eponge bourgeonnante par suite des mouvements de spicules et de cellules qui se dirigent vers la surface;
- augmentation de la fibrogenèse qui accompagne de nombreuses migrations cellulaires ;
- multiplication des cellules précédant l'émission de bourgeons pour éviter un appauvrissement de l'Eponge-mère dont l'écorce est la première victime .

Ces trois manifestations sont étroitement liées à un fort accroissement du métabolisme au moment de la reproduction asexuée .

D - Variations du pourcentage d'individus bourgeonnants en fonction de la couleur de l'Eponge . (Tableau p.111) .

Il nous paraît aussi intéressant de rapporter une constatation que les chiffres ne démontrent pas d'une manière catégorique mais qui a son importance . Dans la plupart des cas, les Eponges jaunes ont un pourcentage de bourgeonnement inférieur à celui des Eponges

orange ou jaune-orange . On connaît depuis longtemps les grandes variations de couleur de Tethya lyncurium , allant du jaune pâle à l'orange vif . En élevage prolongé, cette coloration est susceptible de changer, sous l'influence de modifications dans les cellules porteuses de pigments . Ces dernières sont essentiellement les archaeocytes et les cellules sphéruleuses . Leur accumulation en certains points pour former des masses de résistance ou leur prépondérance dans la constitution des bourgeons expliquent la couleur vive de ces deux types de formations . Lorsqu'elle est prête à bourgeonner, l'Eponge multiplie les éléments cellulaires mis en cause . De plus, l'entrée en activité des archaeocytes est marquée par une intense phagocytose dont les produits de dégradation sont en partie de nature pigmentaire . Ainsi s'explique, dans certains cas, la coloration plus vive des Tethya en bourgeonnement . Si nous n'avions pas constaté d'importants changements dans la coloration des individus en élevage, nous aurions pu penser qu'il existait deux espèces à l'intérieur de nos récoltes . Une telle constatation a été faite par SARA et MELONE (1965) sur du matériel provenant de l'Adriatique et a donné lieu à la création de Tethya citrina sp. n.

E - Localisation du bourgeonnement .

Pendant les mois où la reproduction asexuée est très faible, la plupart des bourgeons sont situés vers la base de l'Eponge, près du substrat . Ils sont plus ou moins aplatis, généralement sessiles et leur surface est presque glabre . En automne, au contraire, des bourgeons pédonculés et hérissés de spicules apparaissent un peu partout et même à proximité de l'oscule .

MOIS	Diamètre moyen des individus en millimètres		% d'individus bourgeonnant en fonction de la couleur	
	Porteurs de bourgeons	Sans bourgeons	Jaune	Jaune-orange ou orange
Janvier	40,6	37,3	58,1	78,3
Février	41,9	36,8	30	29,4
Mars	38	36,5	22,2	31,8
Avril	40	37,7	17,9	18,1
Mai	42,5	38,4	0	9,5
Juin	22	38,1	0	14,3
Juillet	38,3	34,5	2,8	8,3
Août	33	32,5	12,5	25
Septembre	43,6	39,5	31,6	52,2
Octobre	40,1	36,2	64,1	76,1
Novembre	38,4	33,6	68,6	52,6
Décembre	35,7	30,2	75	73,7

RELATIONS ENTRE LE BOURGEONNEMENT, LA TAILLE ET LA COULEUR DES INDIVIDUS .

Les observations rapportées ci-dessus nous permettent d'affirmer, en nous appuyant sur un chiffre élevé d'individus, que le bourgeonnement de Tethya lyncurium dans la nature, se produit toute l'année mais avec une forte intensité pendant l'automne et l'hiver . Il en est tout autrement du bourgeonnement expérimental, souvent lié à des conditions asphyxiques ou à des phénomènes de régénération . Dans ce cas, en effet, nous avons vu apparaître la reproduction asexuée sur des individus entiers ou traumatisés par des sections, aussi bien en été qu'en hiver .

III - ASPECTS MORPHOLOGIQUES DU BOURGEONNEMENT .

Les bourgeons (ou sorites) qui ont fait l'objet de notre étude sont de deux sortes :

- soit des bourgeons naturels, présents sur les Tethya au moment de leur récolte, en certaines périodes de l'année en particulier,
- soit des éléments apparus dans des conditions expérimentales sur des fragments d'Eponges en voie de " régénération " . Nous avons adopté pour les désigner le terme de " bourgeons expérimentaux " utilisé par CHERFELS . Il s'agit de véritables sorites, à ne pas confondre avec certains greffons qualifiés du même nom par PARIS et auxquels nous faisons parfois allusion dans ce travail .

A - Provocation du bourgeonnement .

Pour déclencher la formation des bourgeons, CHERFELS maintenait des moitiés de Tethya dans un cristalliseur d'eau de mer renouvelée peu souvent, donc dans des conditions de vie assez mauvaises . Ils apparaissaient aussi bien au niveau du cortex maternel

qu'au-dessus de la section cicatrisée . En effectuant les expériences de fragmentation déjà analysées, nous avons provoqué le même type de bourgeonnement sans avoir recours à des conditions asphyxiques . Tous les élevages ont été faits en eau courante et le traumatisme causé à l'Eponge par la section (avec tous les remaniements cellulaires que cela entraîne) suffit à faire apparaître les sorites . Ceux-ci se sont formés aussi bien sur des demi-Tethya que sur des quarts ou des huitièmes, seulement au niveau de la partie corticale du fragment . C'est cependant avec les demi-Tethya qu'ont été obtenus les bourgeonnements les plus spectaculaires (Fig. 14) . Nous avons également constaté qu'une brusque élévation de la température, engendrant une putréfaction rapide de certaines Eponges par suite d'une intense prolifération bactérienne, pouvait provoquer la naissance de plusieurs dizaines de sorites, en l'espace de 48 h. Ils s'élèvent le plus possible au-dessus du cortex dégénérescent, comme pour sauver de la destruction un lot de cellules destinées à perpétuer l'espèce .



FIGURE 14. Individu reconstitué à partir d'une demi-*Tethya*, montrant un bourgeonnement intense.

B - Modalités d'apparition des sorites .

Le premier phénomène est, en règle générale, l'émission d'un grand nombre de prolongements " filamenteux " (Fig. 15 A) aux environs du douzième jour (parfois vers le quinzième ou le vingt-cinquième seulement) après la section de l'Eponge . Il n'y a aucune différence morphologique entre ceux qui vont donner un bourgeon, ceux qui vont adhérer au support pour assurer la fixation et ceux qui, rencontrant un fragment tout proche vont créer un pont d'union comme dans les greffes (Fig. 15 H) . Nous avons constaté quelquefois une rétraction des "filaments" dix à quinze jours après leur émission, sans voir apparaître de sorites . Il nous est pour le moment impossible d'expliquer ce comportement qui s'est surtout manifesté sur des Tethya entières, élevées en circuit fermé d'eau de mer . Le bourgeon dérive dans certains cas du simple renflement d'une saillie corticale conique (Fig. 15 G) .

" L'expansion filamenteuse " possède un squelette de spicules lui servant de soutien, sur lequel glissent des cellules . On voit ainsi se propager un renflement (Fig. 15 B) jusqu'à l'extrémité distale où s'ébauche l'initiale du sorite (Fig. 15 C) . Des boursoufflures identiques peuvent suivre, donnant à l'ensemble un aspect en chapelet (Fig. 15 D) qui se condense souvent, à l'extrémité, en une masse beaucoup plus grosse . Le "filament" est susceptible de se ramifier et d'engendrer ainsi un bourgeon lobé ou dendriforme (Fig. 15 E). Plusieurs expansions très rapprochées peuvent être à l'origine d'un seul sorite de forme irrégulière, par suite de la fusion de leurs parties distales ; lorsque le support squelettique est dénudé, on a l'impression d'être en présence d'un bourgeon pluripédonculé (Fig. 15 F).

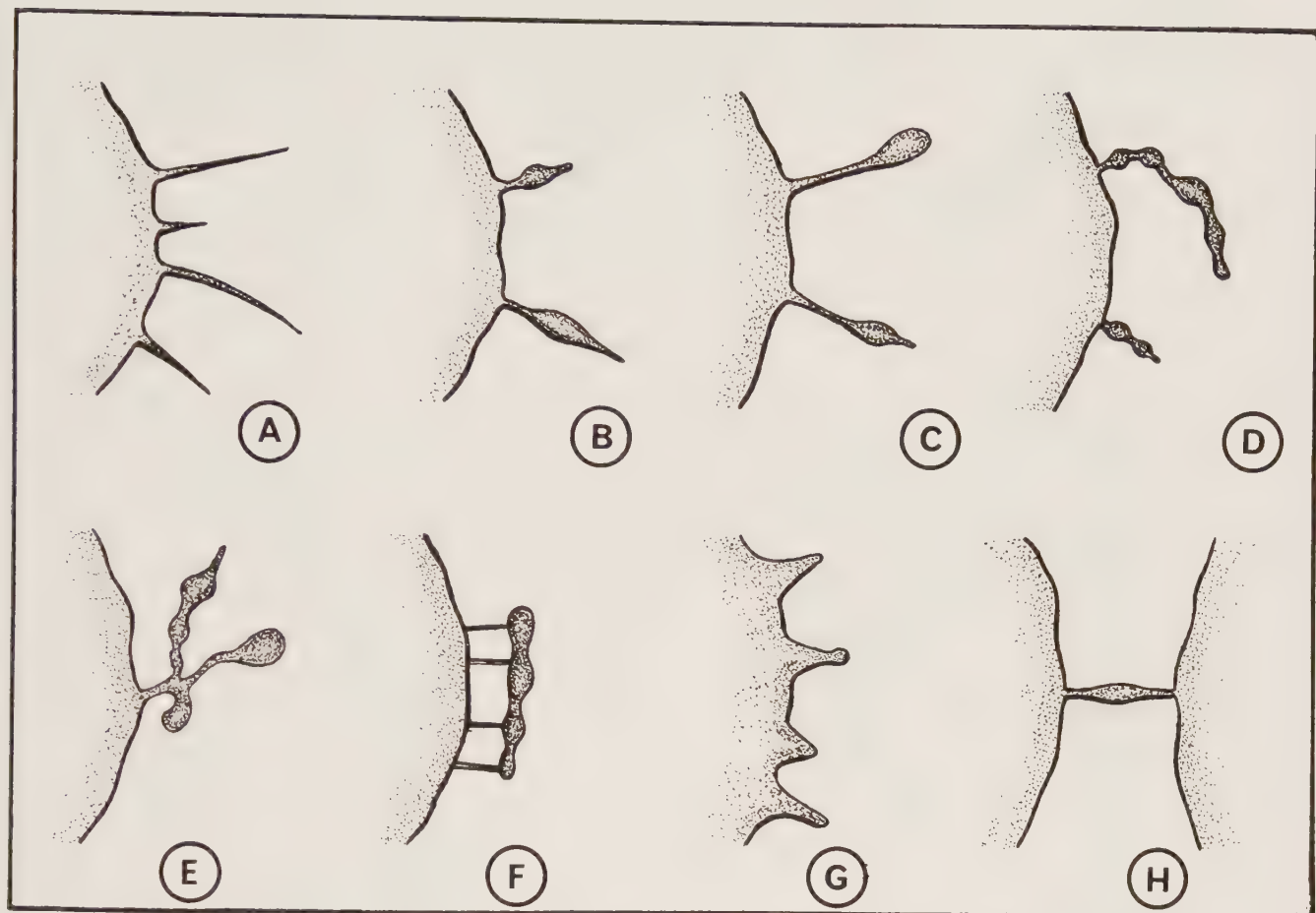


FIGURE 15. Schéma représentant la progression des cellules au cours de l'élaboration des sorites.

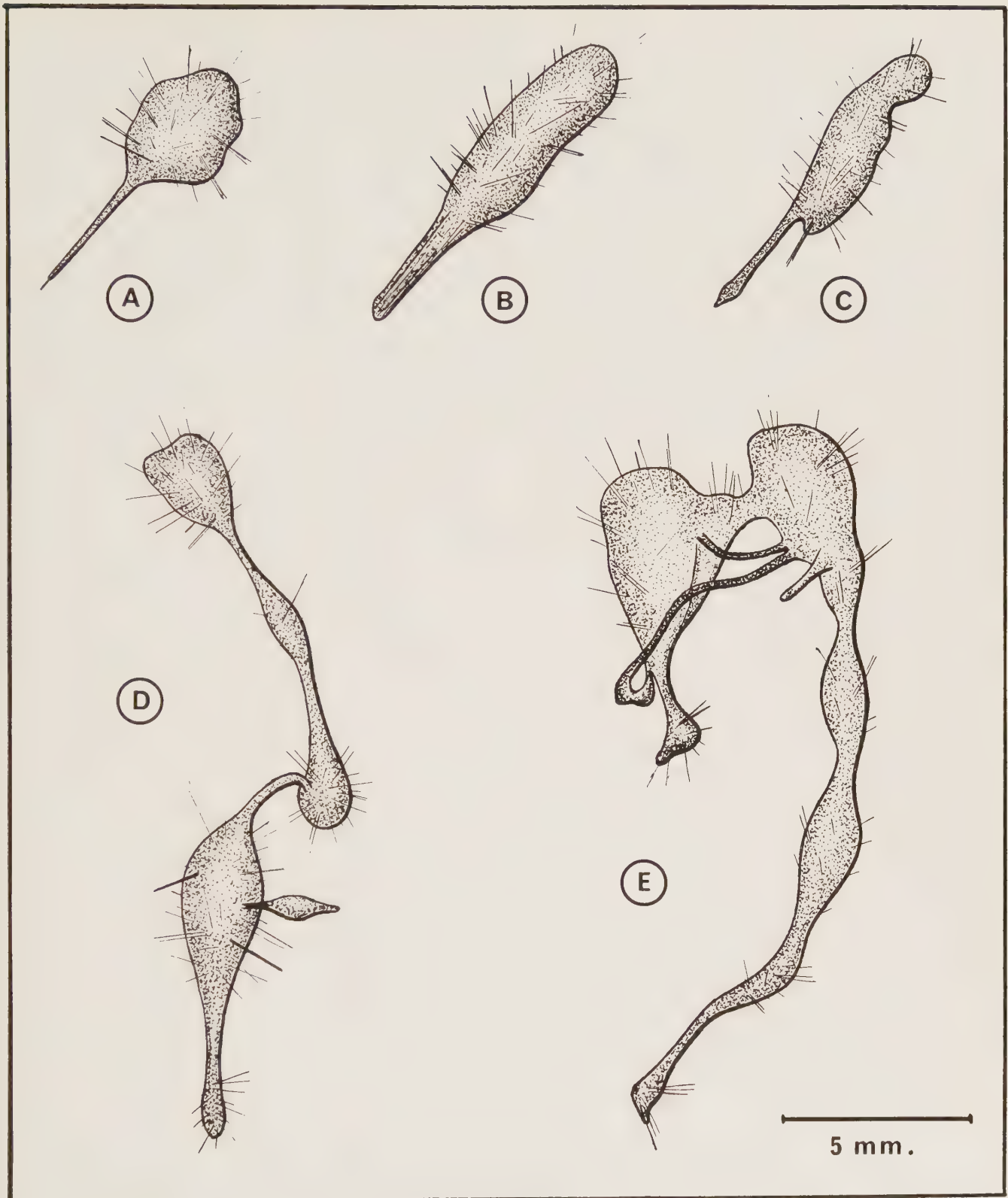


FIGURE 16. Aspect morphologique des sorites.

A. Sorite sphérique prêt à se détacher. B. Sorite oblong dont le pédoncule est encore très épais. C. Sorite difforme. D, E. Fragments de "coulées cellulaires" destinées à fournir plusieurs bourgeons.

Tous ces aspects ne sont que des variantes plus ou moins fréquentes du cas typique (le plus commun dans la nature) caractérisé par l'apparition rapide d'un unique renflement terminal, d'abord oblong (Fig. 16 B) puis sphérique au moment de sa chute (Fig. 16A). De tels éléments sont capables de rester accrochés plusieurs mois à l'Eponge génératrice ou de se séparer très tôt (15 jours après leur formation environ), pour demeurer sur le fond du bac . L'amincissement progressif du pédoncule basal représente un des facteurs actifs du détachement, déterminé ensuite par un important courant d'eau ou un choc quelconque .

Un deuxième bourgeonnement de type particulier succède parfois à la chute des premiers sorites . Quatre mois et demi après la poussée des " filaments " initiaux, nous avons observé sur certains spécimens la formation de longs prolongements de plusieurs centimètres, reliés à la mère par une zone rétrécie . Leur épaisseur oscillait autour de quelques millimètres et leur aspect était celui d'une corde à noeuds . Ces énormes bourgeons, véritables coulées cellulaires le long d'un axe de spicules, s'enchevêtraient, fusionnaient par endroits ou se reliaient au niveau des renflements, par de minces tractus (Fig. 16 D et E) . Lisses ou hérissées de spicules, les " coulées " étaient isodiamétriques ou pourvues de nombreux étranglements . Détachées de la mère, elles se fragmentaient en tronçons plus petits qui devenaient rapidement sphériques et formaient alors des sorites classiques .

C - Evolution des bourgeons après leur détachement .

Que le bourgeon naisse directement sous forme d'un élément bien individualisé, ou qu'il provienne de la fragmentation d'une vaste

coulée cellulaire, l'évolution est la même à partir d'un certain stade. Ayant acquis grossièrement la forme d'une sphère, il se fixe en général au fond de l'aquarium, en adhérant au support par une zone aplatie . Deux cas peuvent alors se produire :

- ou bien il demeure sans se développer (parfois plus de 100 jours) et régresse ensuite par une sorte de lyse, les cellules disparaissant en ne laissant subsister qu'un amas floconneux de spicules enchevêtrés ,
- ou bien il se transforme en une petite Tethya qui consolide sa fixation en émettant des filaments comme les Eponges adultes .

Ces jeunes individus ont une partie centrale très pigmentée, entourée d'une zone périphérique blanchâtre . L'existence de ces deux zones est liée, comme nous le verrons, à une différence de composition histologique . Une légère croissance se manifeste au cours des premières semaines ; elle est ensuite très faible, voire insensible, pendant les mois ou les années qui suivent . Aux premiers stades de leur différenciation, les jeunes Eponges situées à proximité les unes des autres peuvent fusionner . Lorsque la jeune Tethya devient fonctionnelle, les particules de vase situées à sa surface disparaissent, peut-être emportées par le courant d'eau qui s'établit dans l'individu.

IV - PROBLEMES POSES PAR LE BOURGEONNEMENT .

MODALITES D'ETUDE .

La plupart des auteurs qui ont envisagé avant nous la reproduction asexuée de Tethya ont considéré le sorite comme un tout bien individualisé, au même titre qu'une gemmule de Spongillidae ou de Suberites . Que le développement s'amorce à l'intérieur de l'organisme

maternel, comme le pense MAAS, ou qu'il ait lieu à l'extérieur, à partir de plusieurs catégories cellulaires issues de la mère, il ne s'agirait en aucun cas d'une excroissance corticale susceptible de redonner un individu normal et complet .

Pour vérifier cette conception, nous avons réalisé parallèlement plusieurs types d'expériences :

- élevage de sorites naturels prélevés sur des Eponges au moment de leur récolte,
- élevage de " bourgeons expérimentaux ", c'est à dire d'éléments dont la saillie a été provoquée par un traumatisme de l'Eponge-mère,
- élevage d'aspérités corticales de certaines Tethya ayant un aspect particulièrement verruqueux ,
- élevage de " filaments " dont le renflement ultérieur devait donner un sorite,
- élevage de " filaments " ayant adhéré au fond du bac pour assurer la fixation, donc voués à une fonction très différente de la reproduction.

Trois sortes de résultats ont été obtenus dans le premier cas :

- . ou bien les sorites ont involué peu à peu, en diminuant de volume,
- . ou bien, comme cela est arrivé dans les expériences de MAAS et de CHERFILS, ils ont ébauché une organisation sans jamais atteindre le stade à corbeilles vibratiles et anatomie normale ,
- . ou encore, un développement plus ou moins rapide a conduit du stade peu organisé à l'état définitif avec corbeilles et système de canaux bien structurés . Le temps minimum nécessaire pour une évolution complète a été d'un mois à peine au cours d'une période de l'année, en principe assez défavorable (5 Février - 9 Mars)

- Les " bourgeons expérimentaux " ont toujours manifesté une longue période de repos avant d'amorcer leur différenciation, surtout celle des choanocytes . Si l'on considère que les sorites représentent une forme de reproduction asexuée en rapport avec de mauvaises conditions de vie, on peut admettre l'existence d'une diapause, comme dans les gemmules de Spongillidae . Mais il devient alors difficile d'expliquer la rapidité du développement de bourgeons naturels en certaines saisons où les conditions ne paraissent guère favorables .
- Les aspérités corticales ont évolué de la même manière mais une petite Eponge n'a été obtenue que dans quelques rares cas .
- Les expansions filamenteuses destinées à donner des bourgeons ou à assurer la fixation, une fois séparées de la mère, changent rapidement de forme . Elles diminuent de longueur et augmentent d'épaisseur pour donner de petites masses ovoïdes fixées au support et évoluant, par la suite, comme des sorites .

Il est donc permis de penser, en fonction des résultats exposés ci-dessus, que des expansions corticales de nature, forme et volume variables, sont susceptibles de donner naissance à une jeune Eponge . Le succès ou l'échec de l'évolution ultérieure ne semble pas lié au fait que l'on soit ou non en présence d'un ensemble bien individualisé dont le développement n'est limité, ni dans le temps, ni dans l'espace . C'est certainement dans la proportion des différentes catégories cellulaires qu'il faut chercher le facteur déterminant l'orientation dans un sens ou dans un autre .

V - LES APOPHYSES CORTICALES ET LEUR ROLE

Dans une Tethya adulte normale, dont le cortex possède des aspérités polygonales peu élevées et ne porte pas de sorites, la moelle

bien organisée, est assez riche en amœbocytes et polyblastes et contient peu d'archaeocytes . La densité cellulaire de l'écorce est, par contre, assez faible . Nous avons comparé cette constitution histologique avec celle d'une Eponge couverte de sorites ou présentant, à sa surface, des apophyses coniques, à extrémité renflée . Bien que CHERFILS considère ce deuxième type comme une variété de l'espèce principale, nous pensons qu'il s'agit simplement d'individus ayant une modalité de bourgeonnement un peu différente . La moelle présente, dans ce cas, une sorte de désintégration caractérisée par les faits suivants :

- dédifférenciation partielle de beaucoup de choanocytes (perte du flagelle et de la collerette) allant de pair avec une dissociation des corbeilles dont les éléments constitutifs sont en train de migrer,
- accroissement du nombre des polyblastes et des archaeocytes qui manifestent une nette tendance à monter vers l'écorce, en glissant le long des faisceaux de spicules . Le cortex, siège de déplacements abondants, possède un collagène dense, fasciculé ou en tourbillons et de rares plages uniformes . Sa densité cellulaire augmente .

Les apophyses, coniques ou à extrémité piriforme, ont un axe composé de styles enrobés dans un grand nombre de cellules, dont beaucoup engendrent, en se déplaçant, des faisceaux fibrillaires. La bordure pinacocytaire, plus ou moins desquamée, recouvre une assise de strongylasters non continue malgré l'abondance des petits scléroblastes à ce niveau . Amœbocytes, polyblastes et archaeocytes sont en assez grand nombre pour qu'on puisse admettre que ces apophyses ont une vocation reproductrice . CHERFILS a cependant pensé, en raison de l'abondance des cellules sphéruleuses en désintégration, que ces éléments étaient des exutoires pour l'Eponge . Il ne fait aucun doute, il est vrai, que les amœbocytes sphéruleux li-

bèrent en se désintégrant des substances dont la nature est difficile à préciser et qui sont peut-être des éléments de déchet . Mais nous avons déjà souligné que les sphérules pouvaient être considérées comme des réserves de métabolites récupérés par d'autres éléments ou nécessaires à certaines synthèses (collagène par exemple) . D'autre part, le noyau des cellules sphéruleuses qui ne présente plus les signes d'activité de celui des archaeocytes, ne dégénère pas pour autant dans la majorité des cas . Il peut s'isoler au sein d'une mince fraction de cytoplasme et redonner ainsi une cellule qui rentre dans le cycle . Emportées de la mère sous forme d'amas, les cellules sphéruleuses entrent toujours dans la composition initiale du sorite . Leur seule présence, même en abondance, ne doit donc pas faire considérer les apophyses comme des éléments appelés à dégénérer . De plus, ces cellules sont susceptibles de se désintégrer directement dans les couches superficielles de l'écorce ou à la surface de celle-ci et l'on ne voit pas du tout la nécessité d'une saillie aussi importante pour un rejet banal de produits d'excrétion .

Il paraît donc probable, bien que nous n'ayons jamais essayé d'élever de telles apophyses, que nous sommes en présence d'éléments ayant les mêmes propriétés fondamentales que les bourgeons . Leur développement ultérieur doit être lié à la proportion des différentes catégories cellulaires et échouer lorsqu'un certain rapport n'est pas respecté .

VI - CAPACITES DE DEVELOPPEMENT DE CERTAINES ASPERITES CORTICALES .

Nous avons détaché de la surface d'une Tethya à cortex verruqueux, des aspérités de quelques millimètres de haut, morpholo-

giquement différentes des apophyses précédentes mais de structure très voisine sur le plan histologique . Placées en eau courante dès leur séparation de la mère, elles ont été oubliées quelques jours plus tard (et pendant une semaine), à l'extérieur du circuit, dans des coupelles contenant un faible volume d'eau . Après 22 jours de vie libre, leur organisation était très proche de celle des jeunes Eponges .

A - Composition histologique des aspérités fraîchement séparées du cortex .

Soutenues par un axe de styles entouré de cellules en migration (tous les mouvements cellulaires sont orientés vers le sommet), ces aspérités sont caractérisées par leur richesse en polyblastes et en amœbocytes clairs ou finement granuleux . Ces derniers sont surtout abondants dans la partie apicale, mêlés à de grosses cellules sphéruleuses dont ils semblent parfois dériver . On peut ainsi observer un clivage dans une telle cellule (Fig. 4 A) donnant naissance à un petit amœbocyte qui contient peu d'inclusions et à un reliquat cytoplasmique chargé de sphérules . A part quelques figures d'amitose, les divisions nucléaires sont rarement visibles . On trouve, par contre, des cellules dont la complémentarité des formes évoque une division récente ou qui contiennent deux noyaux dans le même cytoplasme . Les groupes de cellules sphéruleuses autour desquels gravitent de nombreux amœbocytes sont de deux sortes :

- certains présentent des limites cellulaires nettes, des noyaux en bon état, rappelant par leur taille et leur aspect, ceux des petits amœbocytes
- d'autres ressemblent davantage à des amas de sphérules qu'à des ensembles cellulaires et sont en général entourés d'une sorte de capsule fibreuse d'origine lophocytaire .

Des archaeocytes typiques, granuleux, à gros noyau nucléolé, se rencontrent également au sommet des aspérités .

Les petits amœbocytes et les polyblastes sont plus rares vers la base où les faisceaux fibrillaires l'emportent, engendrés par des archaeocytes en migration et des lophocytes très déformés . Le déplacement des spicules est assuré par l'ascension de ces cellules vers la périphérie .

B - Evolution des aspérités .

Après avoir séjourné une semaine dans des conditions asphyxiques, les mêmes verrucosités ont acquis, au bout de 22 jours, une forme sphérique et certaines se sont fixées au fond de l'aquarium . Les coupes ont révélé l'existence de deux zones concentriques d'épaisseur inégale : une région périphérique, riche en amœbocytes au sein d'un collagène en vastes plages et une région centrale tourmentée, avec des faisceaux fibrillaires denses, engendrés par les archaeocytes et les lophocytes . La zone la plus externe ne possède pas encore les belles lacunes bordées de pinacocytes qui caractérisent en général, la première étape du développement du bourgeon . Quelques cavités irrégulières commencent cependant à se creuser . On est par contre surpris de trouver à ce stade, des corbeilles en train de s'organiser à la limite des deux régions . Les choanocytes se différencient aux dépens des archaeocytes qui se divisent . Ils n'atteignent pas d'emblée leur plein épanouissement en ce qui concerne le flagelle et la collerette . Autour des amas de cellules sphéruleuses gravitent toujours une multitude d'amœbocytes clairs .

Nous pouvons conclure d'après les observations précédentes, que des fragments corticaux de Tethya prélevés en temps oppor-

tun, en particulier au moment où montent vers la surface des quantités d'archaeocytes d'origine médullaire, peuvent redonner un individu normal . Les aspérités placées en expérience contiennent à peu près toutes les catégories cellulaires à l'exception des choanocytes, avec une nette prédominance des cellules à potentialités multiples et des amoebocytes sphéruleux .

VII - FORMATION ET DEVELOPPEMENT DES BOURGEONS.

A - Première étape du bourgeonnement : " l'expansion filamenteuse".

Comme nous l'avons signalé en étudiant les aspects morphologiques du bourgeonnement, la naissance des sorites commence en général par l'émission de " filaments " qui se renflent peu après à leur extrémité distale . Le support squelettique est fait de styles (un ou plusieurs selon le diamètre de l'expansion) sur lesquels se déplacent les cellules . Par leurs mouvements, elles font glisser les spicules les uns sur les autres, augmentent progressivement la longueur du support et permettent ainsi une croissance rapide de l'expansion (quelques heures seulement) . Des ramifications peuvent apparaître dès le début et ont parfois pour point de départ une anomalie morphologique du spicule (Pl. XII A) . Le nombre de styles s'accroît au niveau des courbures et des ramifications ainsi qu'à la base de l'expansion .

Les coupes transversales, de 100 à 200 μ de diamètre, sont régulièrement circulaires . Elles révèlent une forte densité de cellules comprimées les unes par les autres autour d'un axe occupé par le squelette minéral . La limitante externe est une sorte de pellicule ondulée correspondant probablement à une assise monostrate de pinacocytes dont les noyaux ne sont plus visibles et qui se détache

de la partie sous-jacente (Pl. XII C) . Des éléments étirés et fibreux, à longs prolongements, se disposent au-dessous et les cellules les plus périphériques prennent en permanence le relais de la bordure en desquamation . On rencontre au niveau de cette couche de véritables pinacocytes et des lophocytes en fin d'évolution, à noyau allongé, avec quelques granulations intracytoplasmiques . En certains points, la couche fibreuse bordante ne présente plus de structure cellulaire à l'exception de quelques noyaux dispersés dans les faisceaux de fibres . Au-dessous de ces cellules très aplaties, des lophocytes fusiformes ont un noyau normal et un cytoplasme finement granuleux .

Nous avons déjà noté, en étudiant les processus de cicatrisation de fragments de Tethya, l'existence à la surface de section, d'une importante couche fibreuse au-dessous de laquelle se reconstituent les tissus provisoirement désintégrés . Il semble donc que la première réaction de l'Eponge, dans tout phénomène de régénération ou de reproduction asexuée, soit d'isoler un complexe cellulaire à l'intérieur d'une couche protectrice .

Un renforcement est assuré ici par les strongylasters, issus pour une faible part de l'Eponge-mère et qui, dans la majorité des cas, se forment rapidement sur place . Peu abondants en certains endroits, au point de ne pas figurer sur les coupes transversales (Pl. XII C), ils sont élaborés au fur et à mesure, avant même que le bourgeon soit constitué à l'extrémité du pédoncule . Contrairement à ce que pensent certains auteurs, nous pouvons affirmer qu'une partie des strongylasters est emportée de l'organisme maternel car, au point de naissance des " filaments ", se produit dans l'écorce une grande prolifération de ces spicules et de leurs cellules-mères qui montent dans les expansions .

Archaeocytes et lophocytes évoluent au sein du collagène qu'ils engendrent, entraînant dans leur migration les cellules sphéruleuses . Les archaeocytes sont présents à tous les stades de leur évolution, depuis l'élément peu chargé d'inclusions, à rapport nucléoplasmatique élevé, jusqu'à la cellule bourrée de granulations, ce deuxième aspect étant d'ailleurs le plus fréquent .

Les cellules sphéruleuses, dont l'importance n'est pas négligeable, passent du cortex dans le filament, à l'état isolé ou groupées en amas (Pl. XII B) . Elles sont au début, serrées les unes contre les autres formant par endroits une véritable palissade . Leur noyau peut être dense et nucléolé ou petit, avec de la chromatine granuleuse . Beaucoup de sphérules dégradées laissent à leur place une grande vacuole . Le passage des amoebocytes sphéruleux à l'état groupé, rompt la symétrie de l'expansion filamenteuse par rapport à un axe . Bien que la migration des cellules soit toujours accompagnée de synthèse de collagène, la densité cellulaire est très forte au niveau des " filaments " et il n'y a pas de vastes plages de substance fondamentale .

L'élaboration du bourgeon n'apparaît donc pas, dès les premiers stades, comme le simple transfert d'un complexe de cellules indifférenciées du cortex, appelées à se développer ultérieurement pour redonner une Eponge . Il s'agit au contraire d'une poussée des tissus corticaux (probablement précédée d'une montée d'éléments d'origine médullaire) dans lesquels la dynamique cellulaire ne s'arrête jamais . C'est ainsi que la première différenciation s'ébauchant dès le départ est celle des microscléroblastes . Les lophocytes s'étirent et s'aplatissent à la périphérie pour donner des pinacocytes . Beaucoup d'archaeocytes synthétisent du collagène, perdent leurs inclusions et engendrent des amoebocytes à énorme noyau nucléolé et faible volume cytoplasmique .

Ayant atteint une certaine longueur, le "filament" initial se dilate à son extrémité distale, l'importance de la substance fondamentale augmente et la densité cellulaire diminue (Pl. XII D) : ainsi se forme le sorite ou bourgeon .

B - Structure du jeune bourgeon au moment de sa formation .

Au stade initial correspondant à la dilatation de l'extrémité du " filament ", la structure du bourgeon diffère peu de celle de l'expansion qui lui a donné naissance et se caractérise surtout par un accroissement de la substance fondamentale . Les deux principales catégories cellulaires sont les archaeocytes et les amoebocytes sphéruleux qui se disposent autour d'un axe de symétrie, encore déterminé par le support squelettique d'origine .

La limitante externe est un épithélium de pinacocytes très étalés, se détachant en plusieurs points de la région sous-jacente .

L'assise de strongylasters situés au-dessous est à peu près continue, parfois renforcée par une deuxième rangée de spicules, dont beaucoup sont encore dans leur cellule-mère . Il arrive qu'une couche fibreuse contenant quelques lophocytes sépare les asters des pinacocytes .

La région située entre la périphérie et la zone axiale (où se déplacent une multitude d'archaeocytes et de lophocytes) est occupée par des plages de collagène hébergeant des amoebocytes sphéruleux, des polyblastes et des cellules-mères d'asters .

Sur le plan de la différenciation, la spiculogenèse qui se poursuit est le phénomène le plus marquant, surtout celle aboutissant à la formation des strongylasters . Leurs cellules-mères ont un noyau sans nucléole mais avec des grains de chromatine et un cytoplasme

assez clair . Elles dérivent en grande partie d'archaeocytes dont elles ont perdu les caractères nucléaires et un bon nombre d'inclusions . Nous avons eu également l'impression qu'elles pourraient se former aux dépens de certains amœbocytes provenant à leur tour de cellules sphéruleuses . Ces dernières ont en effet la possibilité de rejeter la plupart de leurs sphérules pour donner naissance à des éléments plus petits, à rapport nucléo-plasmatique plus élevé, rappelant beaucoup les microscéroblastes . De telles cellules sont fréquentes autour des amas de cellules sphéruleuses et même à l'intérieur de ceux-ci . Certaines contiennent de jeunes spicules sous forme d'étoiles de silice qui n'atteignent pas d'emblée leur taille définitive . Nous avons enfin noté l'association fréquente et étroite entre cellules-mères d'asters et amœbocytes sphéruleux .

L'évolution des bourgeons s'effectuant dans le temps d'une manière irrégulière et variable, il est à peu près impossible de caractériser un stade de développement par la date à laquelle il se manifeste . L'indication de l'âge servira donc simplement de repère, pour décrire les différentes étapes de l'élaboration progressive du nouvel individu .

C - Bourgeon de 18 jours .

La coupe longitudinale d'un sorite de 18 jours, passant par la région effilée qui le reliait à l'Eponge-mère, révèle un début d'organisation contrastant avec l'état anarchique originel . De dimensions moyennes (3 - 1,5 mm), cet élément piriforme présente un certain nombre de saillies dont le centre est occupé par des spicules divergeant à partir de l'axe médian : ainsi apparaît l'initiale de la symétrie radiaire du squelette, caractéristique de Tethya .

Le centre n'a pas la même structure que la périphérie et la densité cellulaire y est très différente .

L'épithélium marginal, continu et fin, ne présente aucun changement et limite du côté externe une couche claire de substance fondamentale assez homogène .

L'assise de strongylasters est régulière mais moins dense que dans les spécimens de 8 jours . Chaque spicule est séparé de son voisin par un espace clair et entouré de petites cellules . Bien que nous pensions comme MAAS que le strongylaster se forme à l'intérieur d'un seul scléroblaste, il est possible que les amœbocytes agglutinés autour de lui achèvent sa croissance par apposition de silice .

Les cellules sphéruleuses groupées en amas de 50 à 200 sont disposées régulièrement à la périphérie (Pl. XIII B) . Ces amas peuvent être entourés de quelques cellules étirées, mais jamais d'une capsule fibreuse comme c'est parfois le cas dans l'écorce . Certaines se désintègrent en libérant leur contenu dans le collagène environnant .

Une bonne partie du bourgeon est formée de collagène, en plages et en faisceaux, synthétisé au fur et à mesure par certaines cellules en migration . Celle-ci s'effectue à partir de l'axe central suivant des trajectoires hélicoïdales qui contribuent à former un véritable panache cellulaire . Les lophocytes participent massivement à la fibrogenèse mais ils sont aidés dans ce travail par les archaeocytes qui engendrent au cours de leurs déplacements d'énormes faisceaux de collagène . BOROJEVIC et LEVI (1964) ont d'ailleurs constaté le même phénomène au cours de la réorganisation d'Ophlitaspongia seriata à partir de cellules dissociées . Si l'importance des lophocytes typiques à divers degrés d'évolution est incontestable, le rôle des archaeocytes dans le bourgeon est prépondérant . Leur

extrémité postérieure se prolonge parfois très loin en arrière, même quand elle n'est pas suivie d'un faisceau de fibres . L'épuisement graduel de leurs inclusions conduit à la formation d'éléments plus petits qui doivent correspondre aux fameuses " cellules de transition " de MAAS . Le noyau change d'aspect au cours de ce processus .

Des lophocytes engendrent des collencytes étoilés au milieu de polyblastes et d'amoebocytes s. s. qui sont assez nombreux dans la zone intermédiaire (entre la périphérie et la région des cellules en déplacement) .

Il n'y a, à ce stade, ni sphérasters ni lacunes .

D - Bourgeon de 3 mois .

La différence la plus marquante entre le bourgeon de 18 jours et celui de 3 mois, réside dans la disposition des cellules sphéruleuses et l'aspect des archaeocytes . Il n'y a plus maintenant d'amas bien individualisés et régulièrement disposés mais une zone à peu près continue d'amoebocytes sphéruleux très évolués : beaucoup de noyaux paraissent dégénérescents, les sphérules diminuent de volume, de petits amoebocytes continuent à prendre naissance à partir de cellules épurées . De nombreuses inclusions sont libérées dans la substance fondamentale .

Le squelette organique une fois établi, les cellules génératrices de collagène sont pour la plupart au repos . Les lophocytes demeurent étirés au sein du mésenchyme, alors que les archaeocytes, moins allongés et privés de tout panache fibrillaire, ont tendance à se regrouper . Ils ont perdu au cours de leur migration un grand nombre d'inclusions mais leur cytoplasme reste le plus souvent granuleux . Lorsque le noyau diminue de volume et présente des grains de chromatine, on obtient l'équivalent d'une " cellule de transition " de MAAS.

Si l'épuisement des corps figurés est total et que le noyau demeure clair, avec un gros nucléole, l'archaeocyte retourne à l'état de polyblaste . Cette deuxième évolution est plus rare .

De jeunes sphérasters apparaissent dans leur cellule-mère, à petit noyau et cytoplasme très granuleux (certaines ne dépassent pas 5 μ de diamètre) .

Il n'est pas encore possible de faire la différence entre une zone corticale et une médullaire mais le centre, qui a toujours été occupé durant la genèse du bourgeon, par l'axe de migration des archaeocytes, a une densité supérieure à celle de la périphérie . Des archaeocytes ont tendance à se grouper .

Il n'y a toujours pas de cavités à ce stade .

E - Bourgeons de 8 et 9 mois .

Nous avons examiné à l'âge de 8 mois, un certain nombre de bourgeons ne possédant pas une organisation bien avancée et dont beaucoup de cellules présentaient des signes de désintégration . Les amoebocytes sphéruleux, très abondants, étaient disposés sans ordre, les archaeocytes présentaient souvent des hypertrophies nucléaires et nucléolaires . La substance fondamentale très abondante hébergeait des polyblastes, quelques collencytes, des lophocytes et des strongylasters . Ceux-ci devenaient plus abondants au niveau des saillies de la surface comme cela se produit dans l'Eponge adulte . Les sphérasters étaient toujours peu nombreux .

Bien que des éléments du même lot aient persisté et donné naissance à de jeunes Tethya, nous nous demandons si les spécimens examinés n'étaient pas en train de dégénérer . L'intense fibrogenèse et la faible densité cellulaire rappelaient en effet l'involution de certains régénérats obtenus à partir de fragments d'Eponges adultes .

On observe dès l'âge de 9 mois une grande différence entre la future écorce et la future moelle . La zone périphérique a une substance fondamentale très développée et une densité cellulaire faible. La région centrale, à peu près circulaire, voit ses cellules se regrouper et la fibrogenèse diminuer d'intensité . La taille des bourgeons ne varie pas jusqu'alors .

F - Bourgeon de 10 mois (jeune Tethya) (Pl. XIII C) .

Après une période de repos de plusieurs mois, les " bourgeons expérimentaux " évoluent rapidement en petites Tethya caractérisées par une nette opposition entre deux zones concentriques : l'écorce et la moelle. Le diamètre moyen des spécimens examinés était de 2,8 mm; l'épaisseur du cortex atteignant 400 à 450 μ . Le contour de la jeune Eponge n'est pas régulièrement circulaire mais déformé de temps à autres par des saillies correspondant aux points de fixation ou aux cônes hérissés de spicules qui ornent sa surface . La symétrie radiaire à partir du centre de la sphère est maintenant acquise bien que les styles, encore peu nombreux, se disposent parfois de manière anarchique . Ils commencent à se grouper en faisceaux au centre des saillies sans être entourés comme dans une Tethya adulte par un important cortège de cellules en migration .

Limitée par un épithélium continu de beaux pinacocytes, l'écorce est fibreuse et pauvre en cellules . Tous les amœbocytes sphéruleux ont disparu ou presque, les archaeocytes sont rares, lephocytes et collencytes sont les plus nombreux, étirés au sein du collagène . L'assise de strongylasters est identique à celle de l'adulte, simple la plupart du temps, mais fortement renforcée au niveau des expansions . Les sphérasters encore petits, souvent renfermés dans leur cellule-mère, sont dispersés et en faible nombre . Les

scléroblastes qui leur donnent naissance peuvent avoir un noyau nucléolé et les granulations intracytoplasmiques confirment leur origine archaeocytaire . Par un mécanisme encore inconnu, certaines inclusions se chargent de silice et deviennent entièrement opaques aux électrons (Pl. IX C) . Leur réunion donne naissance aux étoiles qui distendent peu à peu la cellule-mère dont le cytoplasme apparaît alors très clair . Le noyau se modifie également en devenant plus compact . Les styles se forment de la même manière dans des cellules dérivant d'archaeocytes . Après avoir fait éclater le scléroblaste, ils continuent à s'accroître grâce à l'apport de silice par des éléments qui s'étirent à leur surface .

Des lacunes de grande taille se creusent dans le cortex. Elles sont bordées de pinacocytes d'origine lophocytaire ou archaeocytaire (Pl. XIII E) . Dans le deuxième cas, bien plus rare, un archaeocyte évolué ayant perdu un grand nombre d'inclusions et modifié son noyau, s'étire à la périphérie de la cavité et devient en peu de temps un pinacocyte . Si la majorité des archaeocytes subissent au cours de leurs déplacements de grandes modifications, celles-ci ne sont pas précédées, comme le pense MAAS, de divisions cellulaires . Le nombre des cellules n'augmente pratiquement pas durant les premières étapes de l'organisation du bourgeon et les mitoses ne sont nombreuses qu'au moment où se forment les corbeilles. Les strongylasters se disposent autour des lacunes, derrière les endopinacocytes, de la même manière qu'à la périphérie de l'Eponge.

En regardant pour la première fois une coupe de jeune Tethya, on est frappé par l'importance des lacunes, aussi bien dans la zone médullaire que corticale . Cet aspect du système aquifère est très différent de celui d'une Eponge adulte chez laquelle la lumière des canaux est beaucoup plus réduite ce qui rend l'ensemble

plus compact . On note à ce stade de l'organisation un accroissement sensible du diamètre de l'Eponge mais les nombreuses mitoses qui engendrent choanoblastes et choanocytes ne compensent pas cette augmentation de volume . Il en est de même de la fibrogenèse, fort réduite à cette époque . L'apparition d'espaces vides est ainsi facilitée et on a l'impression d'avoir affaire à une vaste cavité centrale compartimentée en nombreuses lacunes par des travées tissulaires formant un réseau . A l'intérieur de celles-ci, au sein d'un collagène moins abondant que dans l'écorce, s'organisent les corbeilles définitives et se creusent de nouveaux canaux . Peu à peu, les choanocytes se multipliant et la fibrogenèse se poursuivant, la partie compacte gagne à nouveau sur les cavités . La configuration définitive de l'Eponge n'est atteinte qu'au bout de plusieurs mois .

Ainsi apparaît la différence fondamentale entre le bourgeon naissant dont les éléments constitutifs peuvent vivre sans contact direct avec l'eau de mer en raison de leur physiologie particulière et la jeune Eponge possédant des choanocytes différenciés dont la nature exige un important courant d'eau .

Les lacunes situées à la limite de l'écorce et de la moelle (Pl. XIV A) sont bordées d'un côté par des endopinacocytes et le collagène cortical, de l'autre par les travées au milieu desquelles se forment les corbeilles .

Les premières chambres vibratiles apparaissent dans la moelle du côté externe alors que la partie tout à fait centrale demeure plus longtemps indifférenciée et massive . Ce type de différenciation centripète a été observé par DEVOS (1965) au cours du développement des bourgeons de Mycale contareni .

Les archaeocytes se groupent en amas plus ou moins importants, certains engendrant jusqu'à leur immobilisation un vaste

panache fibrillaire . On peut même voir de telles cellules, encore solidaires de fibres, placées au milieu des choanocytes et destinées, par conséquent, à fournir des éléments vibratiles . L'élaboration d'une corbeille peut se faire selon deux modalités : ou bien les archaeocytes se multiplient et la lumière n'apparaît que secondairement au milieu des choanocytes, ou bien les cellules à potentialités multiples se disposent autour d'une cavité préalablement creusée dans le collagène et se divisent plusieurs fois sur place pour donner les cellules flagellées .

Dans tous les phénomènes de cicatrisation et de régénération étudiés jusqu'à présent et faisant intervenir les archaeocytes, nous avons rarement vu de mitoses et nous étions tentés de conclure que le seul moyen de multiplication cellulaire chez Tethya était l'amitose par clivage . On assiste dans ce cas, à une division du volumineux nucléole pendant qu'une ceinture équatoriale claire partage en deux le noyau ; une fraction de cytoplasme entoure chaque noyau-fils et ainsi se constituent deux nouvelles cellules . En raison de la période restreinte au cours de laquelle se produisent les mitoses et à cause des difficultés qui gênent leur détection (petite taille du noyau, très faible affinité pour la fuchsine dans la réaction de FEULGEN) nous avons pensé pendant longtemps qu'elles n'intervenaient pas dans le développement des sorites . Or, il se trouve qu'elles sont assez fréquentes et typiques, au moment précis où se forment les corbeilles, pour qu'on puisse en observer toutes les phases (Fig. 17 D et Pl. XIV B à F) . Elles intéressent en premier lieu les archaeocytes qui donnent des cellules plus petites ou choanoblastes, engendrant eux-mêmes les choanocytes . A l'état de repos, le noyau des archaeocytes est clair et pourvu d'un gros nucléole . Pendant l'interphase, il augmente de volume et sa chromatine se condense sous forme de grains ou de masses difformes portées par une sorte de réseau

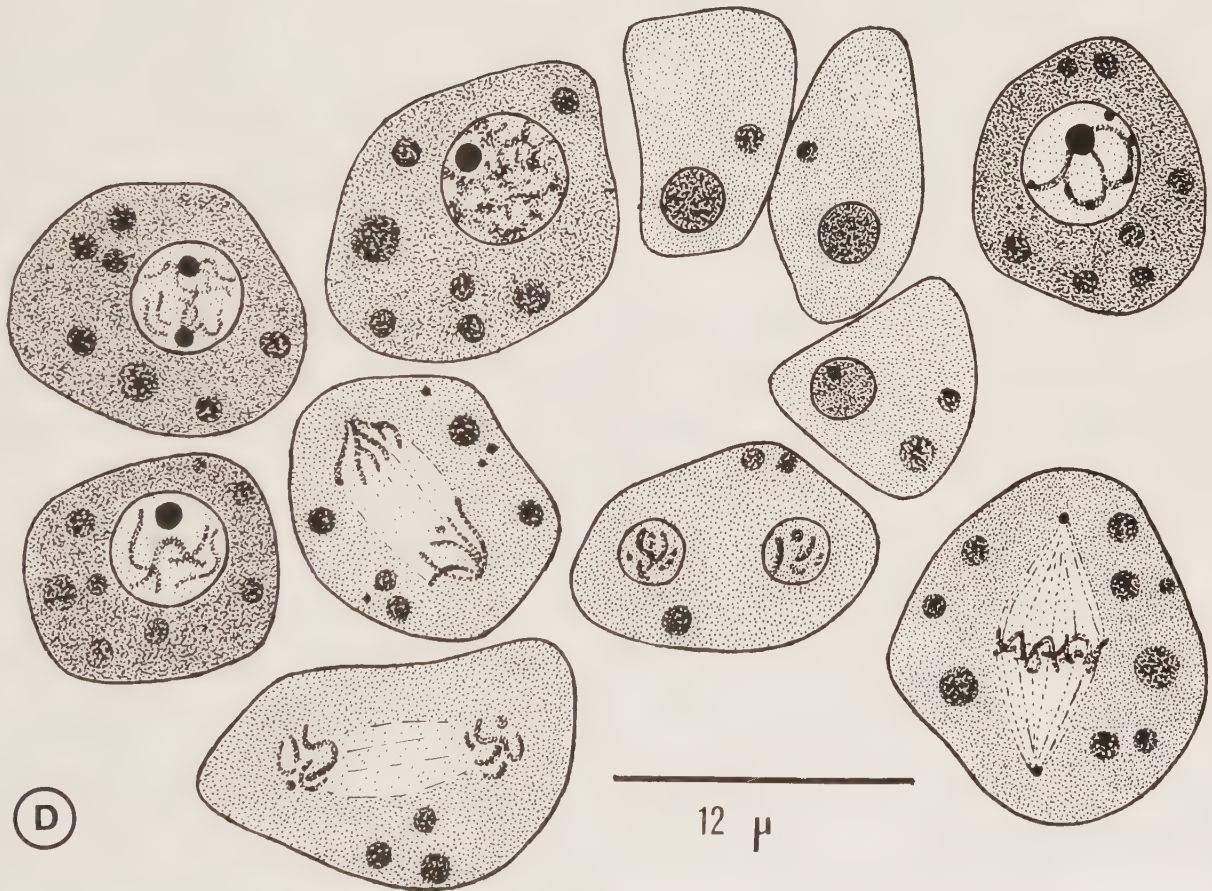
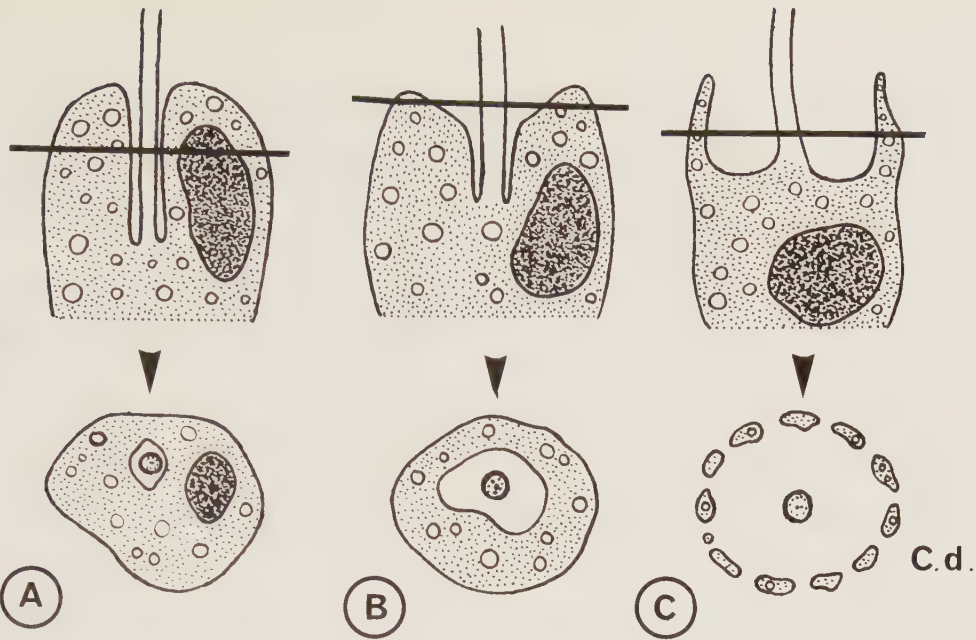


FIGURE 17. A, B, C. Schéma représentant la formation de la collerette périflagellaire : A. Flagelle contenu dans une dépression cytoplasmique. B. Elargissement de la dépression tendant à former une collerette tubuleuse. C. Aspect définitif. D. Mitoses dans des archaeocytes et des choanoblastes au moment de la formation des corbeilles. C. d. : collerette définitive.

Le nucléole est souvent divisé et persiste assez longtemps . Des filaments chromosomiens s'organisent et se disposent par rapport à lui comme dans une centrotaxie de méiose ; ils sont souvent renflés à leur extrémité . Au cours de la prophase, les chromosomes se raccourcissent et s'épaississent ; la membrane nucléaire disparaît pendant que se dessine un fuseau fait de la juxtaposition de deux cônes dont le sommet est occupé par un petit centrosome . Les métaphase, anaphase et télophase rapides conduisent à la constitution de deux noyaux suivie de la fragmentation du cytoplasme . La lumière des chambres flagellées reste occupée pendant un certain temps par des collerettes et des flagelles entremêlés . Les divisions pouvant se poursuivre dans les choanocytes, la corbeille vibratile augmente de diamètre et la lumière centrale grandit . Les choanocytes récemment formés ont un noyau dense . Ils contiennent en général plusieurs inclusions héritées des archaeocytes et la plupart ont dans la région basale, une grande sphérule à contenu fibrillaire dont nous ne pouvons, pour le moment, préciser le rôle . De nombreuses coupes de jeunes choanocytes montrent un flagelle sectionné transversalement ou obliquement (Pl. I F'), entouré d'une zone claire rappelant une vacuole . Cet aspect permet de supposer que le flagelle se forme à l'intérieur de la cellule au milieu d'une dépression cytoplasmique qui s'élargit progressivement (Fig. 17 A, B, C) pour constituer la collerette . Celle-ci a initialement l'aspect d'un tube de cytoplasme dans lequel on retrouve les petites vacuoles dont les choanocytes sont bourrés . La division en villosités apparaît secondairement comme l'ont signalé BOROJEVIC et LEVI (1965) au cours de la morphogénèse de Mycale contarenii .

Les canaux aquifères apparaissent en même temps à proximité des corbeilles . Ils sont bientôt tapissés d'une assise pinaco-

cytaire dont les éléments constitutifs sont au départ des lophocytes ou des archaeocytes venus s'étirer à la limite du mésenchyme et de la cavité .

G - Bourgeons naturels .

L'étude des bourgeons naturels apporte peu d'éléments nouveaux et confirme , dans la majorité des cas, les résultats obtenus avec les " bourgeons expérimentaux " . Si la plupart d'entre eux demeurent de longs mois dans leur état originel lorsqu'on les conserve en élevage, certains se développent très vite et sont déjà partiellement organisés au moment où ils se détachent de l'Eponge-souche . Nous avons pu constater ce phénomène avec des sorites prélevés en Février sur une Tethya et qui ont donné, en l'espace d'un mois, des Eponges normalement constituées . Le bourgeon à évolution rapide présente dès le départ deux zones concentriques nettement visibles . La région centrale (Pl. XIII A), très riche en archaeocytes et lophocytes, entoure un axe squelettique formé de styles . Ces deux catégories cellulaires effectuent en général un mouvement hélicoïdal et sont suivies d'abondants faisceaux fibrillaires . La région périphérique, moins développée, possède beaucoup plus de substance fondamentale et sa densité cellulaire est plus faible . On y trouve des cellules sphéruleuses, des cellules-mères de strongylasters, des lophocytes, des polyblastes . Des lacunes bordées de pinacocytes sont déjà constituées bien que la future moelle soit dans un état compact .

Après avoir effectué une migration accompagnée de fibrogenèse, les archaeocytes s'immobilisent et ont tendance à se grouper . La partie externe de la zone centrale présente la plus forte densité cellulaire .

Au bout d'un mois de vie autonome, les mêmes bourgeons sont fixés au substrat et présentent plusieurs saillies soutenues par des spicules isolés ou fasciculés . La distinction entre écorce et moelle est encore plus nette, les lacunes corticales plus vastes, les corbeilles vibratiles nombreuses . Il y a très peu de cellules sphéruleuses . Les canaux aquifères qui se creusent sont bordés de pinacocytes ou des éléments qui les engendrent : lophocytes et archaeocytes (Pl. XV C et D) . Ces derniers se divisent plusieurs fois pour donner des choanocytes . On peut ainsi trouver dans une même corbeille (Pl. XV B) des cellules dont la taille du noyau varie entre 1,5 et 3,5 μ . Certains archaeocytes synthétisent du collagène jusqu'à leur immobilisation (Pl. XV A) .

Une légère différence apparaît donc entre le développement des bourgeons naturels et celui des " bourgeons expérimentaux " . Dans le premier cas, l'évolution générale est beaucoup plus rapide mais le système aquifère s'ébauche de très bonne heure et s'organise plus lentement .

VIII - CONCLUSION .

L'étude des bourgeons naturels ou " expérimentaux " de l'Eponge Tethya lyncurium permet de considérer ces éléments comme des ensembles mésenchymateux, comprenant dès le départ plusieurs catégories cellulaires . Ils ont pratiquement la même composition que l'écorce et diffèrent donc fondamentalement des gemmules de Spongilidae, composées d'un massif d'archaeocytes semblables, entouré d'une capsule protectrice, ainsi que des bourgeons de Mycale qui contiennent les différentes sortes de cellules y compris les choanocytes et dont le développement se réduit à une organisation . Le sorite de Tethya ne se présente jamais sous forme d'un amas bien indivi-

dualisé de cellules multipotentes dont la différenciation pourrait commencer à l'intérieur de la mère . Comme les expansions corticales (verrucosités, apophyses, filaments fixateurs) qui évoluent de la même façon que lui, il se compose de plusieurs types cellulaires avec une nette prédominance des archaeocytes et des amoebocytes sphéruleux.

Le rôle joué dès l'origine par le squelette organique ou minéral est très important . Nos constatations concordent avec celles de FAURE-FREMIET, MEEWIS et LEVI sur l'intense fibrogenèse qui accompagne la reconstitution d'Eponges dissociées ou la morphogenèse normale . La plupart des cellules migrant le long des faisceaux de styles ou se groupant à leur extrémité pour constituer le sorite participent à la synthèse du collagène . Il est souvent difficile de dire si un archaeocyte suivi d'un énorme panache fibrillaire évoluera en lophocyte pour finir dans le mésenchyme sous forme d'un fibrocyte ou d'un collencyte ou s'il donnera naissance à d'autres types cellulaires . La majorité des spicules apparaissent de très bonne heure, en particulier les strongylasters qui se disposent à la périphérie en une assise régulière . Pendant que s'organisent les tissus de soutien, au centre desquels vont s'édifier plus tard les corbeilles vibratiles, la région marginale prend l'aspect d'une couche protectrice : des fibroblastes engendrent des pinacocytes au-dessous desquels se placent les asters . La plupart des scléroblastes dérivent d'archaeocytes à peine modifiés, notamment ceux qui donnent les styles et les sphérasters . Les cellules-mères de strongylasters sont par contre assez différentes . Elles proviennent certainement d'archaeocytes très évolués ou d'amoebocytes dérivant à leur tour de cellules sphéruleuses . Ces dernières disparaissent à peu près complètement au cours du développement du bourgeon et leurs sphérules doivent libérer des substances indispensables au métabolisme

durant la morphogenèse . Sans vouloir souscrire à une hypothèse finaliste, il semble plus logique d'admettre la présence dans un jeune bourgeon d'un grand nombre d'éléments trophiques que de considérer ces cellules comme excrétrices . Cette supposition est encore renforcée par la disparition presque totale des amœbocytes sphéruleux au moment où apparaissent les corbeilles vibratiles, c'est à dire lorsque la jeune Eponge acquiert une physiologie normale .

L'irrégularité dans le temps de l'évolution du bourgeon explique en partie l'échec de la plupart des expérimentateurs . De plus, la proportion des diverses catégories cellulaires à l'intérieur d'un sorite fixe sa destinée, dans le sens d'un développement ou d'une involution . Une prédominance de la phase fibrogénétique associée à une désintégration cellulaire peut conduire par exemple à un corps sphérique, presque entièrement formé de collagène, qui dégénère au bout d'un certain temps .

La différenciation des cellules au cours de la morphogenèse, s'accompagne d'une organisation anatomique centripète : apparition d'une couche protectrice périphérique, différence de plus en plus poussée entre zone corticale et médullaire, creusement des lacunes corticales, organisation des corbeilles de la périphérie au centre de la moelle .

L'importance du bourgeonnement varie considérablement en fonction des saisons et ce phénomène est certainement lié à un état physiologique déterminé dans le temps comme l'est par exemple l'apparition des produits sexuels . Il nous semble difficile de considérer les bourgeons naturels comme un moyen de résistance à des conditions de vie défavorables . La diapause plus ou moins longue est en effet le seul argument en faveur de cette hypothèse . Le bourgeonne-

ment est au contraire un processus normal de reproduction asexuée dont la fréquence varie avec les époques .

L'apparition des bourgeons expérimentaux est par contre liée à de mauvaises conditions de vie faisant suite à un état asphyxique (expériences de CHERFILS) ou à un traumatisme mécanique (expériences personnelles) . Dans ce deuxième cas, nous avons déjà signalé que la désintégration des tissus rompait un état d'équilibre, en particulier au niveau de la moelle et aboutissait à la mobilisation d'une multitude d'archaeocytes . Ces cellules phagocytent alors beaucoup d'éléments flagellés et se chargent de substances qui leur servent, pensons-nous, de réserves au cours de leur activité . Elles migrent alors vers les surfaces de section où s'élabore un tissu cicatriciel et peuvent aussi renforcer le stock archaeocytaire cortical . Ainsi se trouve stimulée la fonction bourgeonnante de l'écorce . Plus le traumatisme est fort, plus la désintégration est importante et plus le nombre d'archaeocytes augmente . L'intensité du bourgeonnement varie en proportion et, dans les cas extrêmes, peut se traduire par de véritables " coulées cellulaires " . Une Eponge normale possède assez peu d'archaeocytes médullaires, un certain nombre de polyblastes et de petits amoebocytes . Sous l'influence d'un facteur encore inconnu dans les conditions naturelles et d'un facteur traumatique dans les conditions expérimentales, les polyblastes entrent dans une phase phagocytaire pendant qu'une partie des choanocytes se différencie en petits amoebocytes . Ces derniers sont peut-être susceptibles de donner à leur tour des polyblastes comme tend à le prouver la présence de nombreux états intermédiaires dans la taille du noyau et la valeur du rapport nucléoplasmatique . Cette dynamique cellulaire assez rapide, semble exiger pour se produire, le maintien d'une certaine cohésion de l'ensemble des tissus .

On peut donc finalement considérer le sorite comme une expansion de l'écorce, en précisant toutefois que la densité et le rapport des différentes catégories cellulaires du mésenchyme cortical sont sous l'étroite dépendance de l'activité médullaire . Il ne s'agit pas, comme le pense MAAS, d'un massif d'archaeocytes d'origine profonde effectuant son développement au fur et à mesure de sa progression sans faire appel à d'autres éléments de l'organisme maternel .

CHAPITRE V

MODIFICATIONS HISTOLOGIQUES LIEES A

DES REACTIONS DE DEFENSE DE TETHYA VIS-A-VIS

D'ORGANISMES ETRANGERS

Nous avons considéré dans les chapitres précédents les réactions de l'Eponge Tethya lyncurium vis-à-vis de certains traumatismes et le comportement des différentes catégories cellulaires dans ces conditions particulières . La fragmentation d'un individu, sa dissociation totale à travers une soie à bluter ou les conditions défavorables qui déterminent le bourgeonnement, engendrent des remaniements tissulaires locaux ou généralisés dans lesquels certaines cellules jouent un rôle plus important que les autres . Nous avons pu ainsi noter la prépondérance, à tous les niveaux, des archaeocytes et des lophocytes . En est-il de même dans le cas d'un traumatisme parasitaire ? Pour répondre à cette question, nous avons étudié les réactions de défense de Tethya vis-à-vis des micro-organismes et de l'Amphipode Leucothoe spinicarpa Abildg .

I - HISTORIQUE

Du simple commensalisme au parasitisme, en passant par tous les degrés de la symbiose, les associations entre les Spongiaires et divers représentants du monde vivant ont fait l'objet de nombreux travaux . Des Champignons aux affinités douteuses et même

quelques Protistes ont été plusieurs fois décrits au sein du mésenchyme . La symbiose entre certaines Eponges et certaines Bactéries ou Algues microscopiques est établie de façon certaine mais la plupart des associations, notamment avec les Crustacés, ne sont que des cas de commensalisme . Si la description des commensaux ou des parasites a donné lieu à une abondante littérature, très peu d'auteurs ont envisagé le problème des réactions tissulaires de l'Eponge vis-à-vis d'un élément étranger et sa résistance à des conditions de vie défavorables . C'est semble-t-il à DUBOSCQ et TUZET, en 1936, que l'on doit la première mention d'un processus de défense chez Sycon raphanus . Cette Eponge calcaire possède parfois de petits granulomes formés autour d'un ensemble de particules, par accumulation sur plusieurs couches de nombreux amoebocytes hyalins à gros noyau nucléolé . De telles cellules, dont le cytoplasme renferme un amas de pigment ocre, peuvent être assimilées à des archaeocytes . Quelques années plus tard (1964), TUZET et PARIS étudiant les réactions tissulaires de Suberites domuncula vis-à-vis de ses commensaux et parasites, notent toujours une modification des tissus de l'hôte au niveau de l'organisme étranger (Pagure, Amphipode ou Copépode) . Cette transformation est avant tout caractérisée par la présence d'un grand nombre de spicules et d'amoebocytes à gros noyau nucléolé, à protoplasme granuleux, voire sphéruleux . Signalons enfin, comme moyen éventuel de défense des Spongiaires, l'existence décelée par NIGRELLI et ses collaborateurs (1959, 1960), de substances antimicrobiennes susceptibles de freiner ou d'inhiber le développement de certains micro-organismes .

II - ROLE DES SPICULES DANS L'ELIMINATION DE CORPS ETRANGERS .

Lorsque des Bactéries ou des organismes plus gros comme des Algues ou des Ciliés essayent de se développer à la surface d'un fragment de Tethya en train de régénérer, l'individu atteint fait preuve d'un remarquable moyen de lutte mis en évidence par l'étude histologique . Des morceaux d'ectosome se repliant sur eux-mêmes pour former une sphère présentent souvent des amas de Bactéries (grains, haltères, bâtonnets, filaments) et de déchets (débris de Diatomées ou de spicules, cellules mortes rejetées par

l'Eponge) couvrant des zones plus ou moins importantes de la surface et entraînant la putréfaction des tissus sous-jacents . Ces taches au début très localisées, s'enlèvent aisément à l'aide d'un scalpel, parfois par simple contact . Les tissus, ainsi libérés d'un facteur d'affaiblissement, poursuivent leur évolution normale . A ce niveau, l'épithélium pinacocytaire est souvent desquamé alors que l'assise de strongylasters située juste au-dessous, occupe un volume considérable (Pl. XVII A) . Ces spicules, dont beaucoup sont encore situés dans leur cellule-mère, sont normalement disposés sur une seule rangée, parfois sur deux ; on les trouve ici en abondance . Par leur nombre et leur intrication, ils constituent une sorte de bouclier empêchant la pénétration de corps étrangers à l'intérieur des tissus . Repoussés en permanence par la migration des cellules corticales vers la périphérie, ils forment une zone de rupture qui facilite le rejet des éléments nuisibles . On rencontre ainsi à proximité du cortex de volumineux groupes d'asters repoussant des amas de déchets . Au-dessous des spicules, souvent parmi eux, de grosses cellules claires, chargées d'inclusions, jouent un rôle phagocytaire . Elles dérivent sans nul doute des archaeocytes bourrés de granulations et de sphérules, à gros noyau nucléolé, très abondants au niveau de la zone sous-jacente et souvent groupés .

Si les tissus de l'Eponge prolifèrent de part et d'autre du complexe étranger, on a l'impression que les micro-organismes et les déchets sont contenus dans une crypte .

Le phénomène le plus spectaculaire s'est manifesté sur des moitiés de Tethya 5 ou 6 jours à peine après leur mise en expérience (Fig. 9 D) . Des Bactéries s'étant développées en quelques points pour former des taches limitées, on vit s'élever au-dessus

de la surface les fragments atteints de l'écorce, hissés par des faisceaux de styles dénudés, comme des bourgeons prêts à se détacher. L'examen microscopique de ces fragments a révélé une structure très voisine de celle précédemment décrite, avec en particulier une énorme prolifération des strongylasters serrés les uns contre les autres sur plusieurs rangs. Les morceaux d'écorce ainsi libérés de l'organisme maternel sont voués à la dégénérescence. Leur densité cellulaire décroît pendant que le nombre des asters augmente, les plages de collagène parsemées de petites lacunes sont très abondantes, les grandes lacunes bordées de pinacocytes se laissent envahir par des Ciliés.

III - REACTION DE L'EPONGE A LA PRESENCE D'UN AMPHIPODE.

Leucothoe spinicarpa adulte occupe une loge bien délimitée, le plus souvent située dans la moelle, rarement dans l'écorce. Ovoïde ou réniforme, cette cavité a une taille proportionnelle à celle de son hôte (1 à 3 mm en général). La réaction de défense la plus intéressante a été observée au niveau du choanosome où les tissus se différencient autour du parasite pour former une sorte de galle. Par son aspect et sa nature, elle rappelle au premier abord la gaine décrite chez Suberites autour du Copépode Spongicola uncifera TOPSENT, mais des différences notables méritent d'être mentionnées.

On distingue dans ce tissu réactionnel trois zones principales :

1. Au contact du Crustacé, une sorte de " cuticule " continue et régulière, d'épaisseur constante (2,5 à 3 μ), limite la loge. Elle se

sépare en quelques points des tissus sous-jacents . A un fort grossissement, on devine une fine striation bien que cette couche présente le plus souvent un aspect homogène . La partie la plus externe, contre l'Amphipode, est un peu plus dense que le reste . De nature collagène, elle doit trouver son origine dans une accumulation de cellules étirées dont il ne reste presque plus de traces . Deux indices permettent cependant d'émettre cette hypothèse : 1° - la présence de quelques éléments allongés, sidérophiles, pouvant être considérés comme des restes de noyaux . 2° - l'existence en un point de cellules étirées parallèlement à la cuticule et tassées les unes contre les autres . Notons qu'aucun pinacocyte n'a été décelé à ce niveau .

2. Immédiatement au-dessous de la cuticule, des cellules disposées sans ordre, serrées les unes contre les autres, fortement vacuolisées et le plus souvent dégénéréscentes, donnent à la couche qu'elles constituent l'aspect d'un tissu alvéolaire parsemé de noyaux . Son épaisseur est de 12 μ environ . Comprimées entre les éléments migrants d'une troisième zone et la cuticule périphérique, ses cellules s'observent beaucoup mieux après dilacération des tissus . Il s'agit tout d'abord d'amœbocytes clairs, à rapport nucléo-plasmatique élevé, à gros noyau nucléolé et surtout d'amœbocytes plus volumineux , à rapport nucléo-plasmatique plus faible, pourvus de grandes vacuoles, parfois de quelques inclusions . Les deux catégories sont tassées sur une surface réduite, sans la moindre trace de substance fondamentale et de faisceaux de fibres . La première doit correspondre à des polyblastes, la deuxième à des archaœocytes ayant digéré au cours de leur migration la majorité des inclusions qu'ils possédaient au départ . Dans cette zone, certaines cellules ont des contours nets alors que la plupart sont désintégrées . Des alvéoles polygonales, comprimées les unes contre les autres, rappellent beaucoup

le "tissu alvéolaire" accompagnant la genèse du tissu cicatriciel . Nombre de vésicules claires étant indépendantes, il est difficile de préciser leur origine et de savoir si elles proviennent de la fragmentation d'un grand amœbocyte ou de la dégénérescence d'un petit, privé de son noyau .

3. La troisième zone du tissu réactionnel est de loin la plus importante puisqu'elle peut dépasser 1 mm d'épaisseur . Elle est formée d'une multitude d'amœbocytes en migration qui se déplacent dans une direction perpendiculaire à la cuticule (Pl. XVI A et B) et donnent ainsi aux tissus qu'ils engendrent un aspect rayonnant à partir de la loge centrale . La plupart de ces cellules effectuent un mouvement hélicoïdal que nous avons déjà observé dans la genèse des bourgeons . Nous trouvons à ce niveau des lophocytes typiques en pleine fibrogenèse ou en fin d'évolution (collencytes très étirés, à petit noyau) et des archaeocytes chargés de corps figurés qui disparaissent peu à peu au cours de la migration (Pl. XVI B) . Ces derniers participent comme les précédents à la fibrogenèse et les files de cellules sont plus ou moins séparées par des faisceaux de collagène (Pl. XVI B et D) . Plus on approche de la deuxième zone, plus les archaeocytes sont clairs : d'énormes vacuoles remplacent les inclusions . Leur noyau est souvent hypertrophié et pourvu d'un volumineux nucléole : plusieurs cellules de 15 μ de diamètre possèdent un noyau de 7 à 8 μ , un nucléole de 1,5 à 2 μ et des grains de chromatine . Nous avons rencontré quelquefois des noyaux avec une grosse encoche correspondant à un nucléole plaqué contre la membrane nucléaire (Pl. XVII B) . Les cellules sphériques typiques, à noyau comprimé par d'énormes vacuoles, sont plus rares .

Contrairement à ce qui se passe au niveau des amas

de Bactéries ou de déchets, on ne trouve dans le tissu réactionnel aucun spicule . Dans les régions éloignées du Crustacé, les choanocytes réapparaissent, d'abord dédifférenciés, puis normaux et groupés en corbeilles : on passe progressivement à un tissu médullaire normal .

Nous avons retrouvé le même type de réaction de défense autour d'un Crustacé régressé actuellement à l'étude . Les individus parasités hébergent également une multitude d'oeufs ainsi que les premiers stades embryonnaires . Autour de ces derniers s'ébauche un tissu réactionnel beaucoup moins structuré que celui qui entoure les adultes : la cuticule fait défaut et, malgré l'abondance d'archaeocytes et de lophocytes à proximité, les corbeilles vibratiles persistent . Elles sont cependant désintégrées et les choanocytes dédifférenciés commencent à migrer sous forme d'amoebocytes .

IV - CONCLUSION .

1°) Si le squelette organique des Eponges joue un rôle de tout premier plan au cours de divers phénomènes biologiques, les éléments minéraux prennent également une part active à la réalisation de nombreux processus . PARIS a insisté sur leur rôle pendant les premières phases de la greffe et nous avons confirmé leur importance dans la création de ponts d'union entre fragments voisins ou dans la constitution de supports pour la sortie des bourgeons . Nous avons déjà signalé leur intervention comme moyen de résistance lorsqu'ils isolent des groupes cellulaires en bon état au-dessus d'une Eponge en décomposition . Il est intéressant de noter ici un phénomène parallèle mais inverse, les styles intervenant pour rejeter un fragment en putréfaction et protéger ainsi les régions sous-jacentes .

Les asters participent de la même manière à la sauvegarde de l'Eponge : ils se multiplient en certains points pour éliminer par un détachement en bloc un complexe de bactéries ou de déchets .

2°) La présence d'un Amphipode inquilin ou d'un Crustacé parasite constitue un type particulier de perturbation dont le résultat immédiat est une dédifférenciation d'un vaste territoire, accompagnée d'abondantes migrations cellulaires . Comme dans toutes les zones où se produit une désintégration des tissus, on observe la prépondérance des amœbocytes à potentialités multiples (archaeocytes ou polyblastes) et des lophocytes . Les choanocytes disparaissent de tout le territoire désintégré . Certains sont phagocytés par des archaeocytes mais la plupart se dédifférencient en amœbocytes qui changent de vocation . On peut observer ce changement à la limite du tissu réactionnel et du tissu médullaire normal ainsi qu'au début de la réaction de défense . Les migrations de cellules à partir de territoires éloignés viennent renforcer le nombre des éléments qui se trouvent sur place . La multiplication des archaeocytes est rare . On observe cependant quelques amitoses par clivage, précédé ou non d'une division nucléolaire (Pl. XVII E et F) .

Les archaeocytes perdent peu à peu leurs granulations soit en migrant, soit en place dans le tissu réactionnel . Cet épuisement est certainement lié à la fibrogenèse et à des modifications locales du métabolisme nécessitant l'utilisation des réserves pour survivre . Beaucoup dégénèrent et se désintègrent . On ne trouve jamais de vastes plages de substance fondamentale . Le collagène se présente sous forme de faisceaux étroits dans le sillage des cellules . Le croisement de ces faisceaux aboutit à l'élaboration d'une sorte de réseau .

L'Eponge ne semble pas pouvoir rejeter l'Amphipode mais cherche à réparer les lésions causées par sa pénétration . Elle mobilise dans ce but une multitude de cellules et isole l'inquilin de son milieu intérieur en formant une cuticule

C H A P I T R E VI

PROLIFERATION ASEXUEE PAR BOURGEONNEMENT

BASAL CHEZ SYCON RAPHANUS

Avant de conclure notre travail sur la régénération et la reproduction de Tethya lyncurium par bourgeonnement, il nous a paru intéressant d'examiner chez une Eponge calcaire hétérocoele (Sycon raphanus O. Schmidt) un mode assez fréquent de prolifération asexuée . Nous avons en effet souligné, dans les chapitres antérieurs, le rôle prépondérant du mésenchyme (notamment des archaeocytes et des lophocytes) à tous les niveaux de la biologie de Tethya . Il était donc normal d'envisager l'importance du même ensemble cellulaire chez une Eponge calcaire .

I - ASPECT MACROSCOPIQUE DU BOURGEONNEMENT .

Dans un mémoire de 1872, HAECKEL signale l'existence chez certaines espèces de " Sycones ", de spécimens constitués par des souches de plusieurs individus réunis à la base . Ces ensembles dériveraient, soit d'une division au cours du développement, soit d'un bourgeonnement, soit d'une soudure de plusieurs individus à la suite d'un contact . Considérant successivement les différentes espèces de la famille, l'auteur mentionne la présence de la forme dite " sociale " chez Sycandra ciliata et Sycandra raphanus . Un dessin

d'une telle souche accompagne la description de Sycometra ciliata .

Des figures semblables sont reprises plus tard par des systématiciens et signalées en particulier dans les faunes de ARNDT (1935) et de BURTON (1963) .

Nous avons retrouvé dans les aquariums de la Station Biologique de Sète un assez grand nombre de spécimens rappelant beaucoup le fameux Sycometra ciliata . Ces Eponges appartenaient à l'espèce Sycon raphanus et présentaient, non seulement des groupes correspondant à la forme sociale décrite par HAECKEL, mais aussi tous les stades ayant permis d'aboutir à cet état, par l'intermédiaire d'une sorte de stoïon qui subit une ciliation progressive et une complication structurale pour engendrer un nouvel individu

La plupart des Sycon examinés, en raison de leur bourgeonnement ou de leur appartenance à des groupes ayant une base commune, sont de petites Eponges de forme variable . Généralement cylindriques, avec des extrémités légèrement effilées surtout du côté de l'oscule, elles ne sont jamais sphériques . L'axe longitudinal médian est très rarement droit mais plutôt incurvé . Leur hauteur varie entre 6 et 15 mm, leur diamètre entre 1,5 et 3,5 mm .

La partie antérieure est dans la majorité des cas prolongée par une sorte de " trompe " blanchâtre de 2 à 5 mm, que termine la couronne périoscule (Pl. XVIII A et D) . Cet élément est nettement individualisé par son épaisseur, plus faible que celle du corps, et par sa couleur . Le squelette de cette zone ne comporte pas, en effet, les bouquets d'oxes qui tapissent la surface de l'Eponge et retiennent entre eux de nombreuses particules de vase.

C'est la plupart du temps près de la base (Pl. XVIII) que naissent des excroissances, simples ou ramifiées, ayant l'aspect

de racines . Ces sortes de stolons ont une section circulaire ou en forme de fer à cheval et sont appliqués contre le substrat . Ils deviennent régulièrement cylindriques en se séparant du support pour donner des tubes qui se redressent . Leur portion distale claire, rappelle beaucoup plus la zone sous-osculaire que le reste du corps .

Le squelette ne présente rien de particulier et l'on y trouve les trois types de spicules (oxes, triactines, tétractines) avec des tailles normales .

Dans plusieurs des spécimens examinés, la partie basale donnant naissance aux bourgeons est bifurquée (Pl. XVIII D) .

Ces prolongements restent parfois à l'état de simples tubes qui ne poursuivent pas leur développement, mais dans de nombreux cas, ils se redressent, se renflent en une petite urne (Pl. XVIII B) et contribuent à la formation de véritables collectivités (Pl. XVIII C) .

Si le bourgeonnement se rencontre le plus fréquemment à la partie inférieure, il n'est pas rare de le trouver plus près de l'oscul, mais nous n'avons jamais rencontré, dans ce cas, de jeunes Sycon provenant de cette expansion .

II - CARACTERES ANATOMIQUES ET HISTOLOGIQUES DES SYCON EN BOURGEONNEMENT .

La partie antérieure d'un Sycon en train de bourgeonner à sa base, est à peu près identique à celle d'un individu normal . La région sous-osculaire, que nous avons qualifiée de " trompe " ne possède pas de chambres vibratiles . Elle est formée d'une mince couche de mésenchyme comprise entre deux lames de pinacocytes .

Ces derniers très allongés et très minces, constituent parfois à eux-seuls la paroi de cette région .

Dans la partie moyenne du corps, l'atrium a une forme à peu près circulaire ou légèrement ovoïde et les tubes radiaires qui y débouchent sont normaux, plus ou moins intimément unis selon les cas .

Comme nous l'avons déjà signalé, le Sycon en prolifération présente souvent une base bifurquée . On observe alors sur des coupes sériées allant de la région antérieure à la région postérieure, une déformation de la cavité atriale dont la section prend peu à peu l'allure d'un sablier (Pl. XIX A et B) . Les deux parties qui se rapprochent au niveau de l'étranglement présentent un épaissement du mésenchyme séparant les tubes radiaires en bordure de l'atrium . Ces derniers se fragmentent dans la partie resserrée en nombreuses corbeilles vibratiles plus petites . Le contact entre les deux zones les plus rapprochées de la cavité centrale s'établit par l'intermédiaire d'un pont de mésenchyme devenu de plus en plus abondant . Des choanocytes morphologiquement différenciés (perte du flagelle et de la collerette) migrent vers des lacunes de la substance fondamentale pour redonner des corbeilles qui s'ajoutent à celles provenant de la fragmentation des tubes . En allant vers la base, ces corbeilles sphériques s'allongent et se disposent sur un seul rang autour des deux atriums formés par la constriction précédente . Une fissure apparaît progressivement entre les deux complexes néoformés qui restent unis sur une certaine longueur par quelques travées mésenchymateuses . On obtient enfin deux atriums nettement séparés, avec leurs tubes radiaires rappelant tout à fait l'unique cavité dont ils dérivent .

Pendant que s'effectue la bipartition de la région inférieure

le mésenchyme de l'extrémité des tubes radiaires prolifère en un point sous forme d'un cône (Pl. XIX B) . Cette saillie est extérieurement limitée par une assise de pinacocytes et contient peu de cellules à l'exception des scléroblastes qui sont les éléments les plus nombreux . Une substance fondamentale dense, sillonnée de fibres, héberge des collencytes typiques, étoilés ou fusiformes, à cytoplasme clair et petit noyau sphérique et massif . De rares mégacytes, quelques lophocytes à granulations intracytoplasmiques et quelques choanocytes migrants complètent cette population cellulaire . On n'observe pas d'amoebocytes hyalins, à gros noyau nucléolé, que DUBOSCQ et TUZET (1936) assimilent aux archaeocytes de MINCHIN .

Parallèlement, les tubes radiaires deviennent plus courts au niveau de la saillie mésenchymateuse et ont tendance à s'aplatir progressivement . Arrive un stade où les choanocytes sont directement au contact de l'atrium comme si les tubes s'étaient complètement ouverts (Pl. XIX C et D) .

Le mésenchyme continue à proliférer et se creuse en un tube dont l'intérieur est tapissé de choanocytes, figurant ainsi une véritable structure asconoïde caractéristique des Homocoeles (Pl. XIX E) . Cette sorte de stolon se redresse au bout d'un certain temps, s'élargit et se place parallèlement à l'Eponge qui l'a engendré . La couche interne de choanocytes se fractionne et les groupes ainsi formés s'incurvent, leur concavité étant tournée vers le centre du tube . Le mésenchyme prolifère aux points de rupture et enrobe les ensembles de choanocytes qui deviennent ainsi des corbeilles sphériques . On obtient alors une couronne mésenchymateuse limitée extérieurement et intérieurement par des pinacocytes et contenant de petites corbeilles (Pl. XIX F) .

Les choanocytes se multiplient par mitoses, les corbeilles s'agrandissent, s'étirent et finissent par s'ouvrir dans l'atrium . On passe progressivement de la structure asconoïde à la structure syconoïde classique (Pl. XIX G) . Ce processus de développement est tout à fait parallèle à celui de la reproduction sexuée, le bourgeon asconoïde rappelant étroitement le stade olynthus qui dérive de la larve . Lorsque le jeune Sycon a atteint une certaine taille, il se produit en général une constriction tendant à séparer sa cavité centrale de celle de l'Eponge-mère . Ainsi se forme un nouvel individu complètement indépendant sur le plan physiologique; comme l'ont fait judicieusement remarquer TUZET, PAVANS DE CECCATTY et PARIS (1963), les collectivités temporaires de Sycon ne sont pas de vraies colonies .

III - CONCLUSION .

Le mode de reproduction asexuée que nous venons d'analyser brièvement fait intervenir de façon très nette les trois ensembles cellulaires fondamentaux des Eponges : pinacocytes ectodermiques, choanocytes endodermiques et cellules du mésenchyme . Ce dernier ne prend jamais le dessus comme il le fait la plupart du temps chez Tethya lyncurium et le rôle des archaeocytes est ici réduit à sa plus simple expression . Leur présence très rare et leur faible efficacité dans les phénomènes de régénération et de reproduction asexuée ont d'ailleurs été maintes fois soulignées chez les Eponges calcaires . VASSEUR (1879) note l'intervention de l'ectoderme de l'endoderme et du mésenchyme dans le bourgeonnement de Leucosolenia botryoides . KOROTKOVA (1962) étudiant la reconstitution de la paroi du corps de Leucosolenia complicata à la suite d'une blessure, constate la formation d'une membrane de régénération

faisant intervenir toutes les catégories de cellules . Une lame de mésenchyme encadrée de deux assises de pinacocytes sert de support aux choanocytes en migration . Chaque type cellulaire de la partie régénérée provient du même type de l'Eponge blessée . Le rôle des archaeocytes n'est d'aucune importance . D'une façon parallèle, KOROTKOVA et ses collaborateurs (1965) notent l'intervention des vieux tissus dans la reconstitution de Sycon lingua à partir de fragments du corps . Selon ces auteurs, la différenciation des cellules s'effectuerait sans perte des potentialités histologiques et les nouveaux tissus dériveraient des anciens redifférenciés . MAAS (1907-1910), TUZET et PARIS (1963) attribuent toutefois au mésenchyme des Eponges calcaires une certaine importance . Pour MAAS, les " gemmules artificielles " de Sycon raphanus et Leucosolenia lieberkühni, obtenues dans des conditions expérimentales très particulières, seraient des amas de cellules à granulations, voisines des archaeocytes . TUZET et PARIS notent chez Sycon raphanus une grande abondance d'amœbocytes dans les zones de régénération . Certains proviendraient de simples migrations, d'autres dériveraient de choanocytes transformés .

Quoi qu'il en soit, le rôle joué chez les Eponges calcaires par le mésenchyme et plus particulièrement par les archaeocytes est bien inférieur à celui qu'on lui connaît chez la plupart des Démosponges . Il n'y a pas chez Sycon, comme chez Tethya, formation d'un complexe mésenchymateux susceptible de redonner une Eponge, les choanocytes dérivant des archaeocytes . Le mésenchyme intervient seulement ici comme moyen mécanique de propagation, surtout par sa phase fibreuse qui modèle le " stolon " .

Nous signalerons pour terminer une certaine ressemblance entre Tethya et Sycon en ce qui concerne la localisation de l'activité

reproductrice . Les bourgeons de Tethya peuvent apparaître en n'importe quel point de la surface mais ils sont beaucoup plus abondants vers la région basale, surtout lorsqu'ils sont peu nombreux . Il en est de même des bourgeons de Sycon qui se forment le plus souvent près du substrat . On note d'ailleurs, en période de reproduction sexuée, une plus grande abondance d'ovocytes dans la partie inférieure que supérieure .

R E S U M E E T C O N C L U S I O N S

L'étude histologique et cytologique de Tethya lyncurium nous a permis de distinguer treize catégories cellulaires dont la plupart n'étaient connues que par des travaux en microscopie photonique . Deux d'entre elles, les cellules grises et les cellules microgranulaires, n'avaient jamais été signalées chez cette Eponge, à notre connaissance . Certains types ayant des rapports étroits de filiation et de structure, peuvent être rapprochés, alors que d'autres comme les scléroblastes, présentent de notables différences cytologiques .

Pour traduire deux états d'activité très différents des cellules totipotentes, nous avons séparé les archaeocytes des polyblastes . Ces derniers représentent le stade de jeunesse des premiers et peuvent se former aux dépens d'amœbocytes dérivant à leur tour d'autres cellules, même des choanocytes . L'archaeocyte a un rapport nucléoplasmatique plus faible que le polyblaste et un cytoplasme chargé d'inclusions . Il participe à la fibrogenèse et peut donner, par simple évolution ou par divisions successives, toutes les catégories cellulaires de l'Eponge .

Les cellules sphéruleuses méritent une mention spéciale à cause de leur nombre et de leur présence en abondance dans les jeunes bourgeons . Etant donné l'existence concomitante de sphérules et de phagosomes dans certains archaeocytes, on peut supposer qu'elles dérivent de tels éléments comme l'ont suggéré plusieurs auteurs . Il y aurait dans ce cas une évolution très particulière conduisant à la constitution de sphérules compactes dont le contenu serait récupéré plus tard par l'Eponge pour son métabolisme . L'évo-

lution d'une cellule sphéruleuse peut conduire à une cellule vacuolaire dégénérescente ou à un amœbocyte libéré de ses inclusions et entrant à nouveau dans le cycle . Nous ne considérons pas les cellules sphéruleuses comme de simples éléments excréteurs permettant à l'Eponge de rejeter certaines substances dans le milieu extérieur .

La reconstitution d'individus normaux à partir de fragments du corps de différente taille ou de différente composition (ectosome + choanosome, ectosome seul ou choanosome seul) nous a permis de vérifier la nette supériorité de l'écorce (uniquement formée de mésenchyme) sur la moelle (où le mésenchyme est en faible proportion par rapport aux choanocytes) .

La surface du choanosome fraîchement coupé est recouverte en peu de temps par un tissu cicatriciel fibreux, principalement formé de lophocytes . Ce sont les mêmes cellules qui interviennent pour réparer une blessure corticale et redonner les pinacocytes de surface . Si la section est plus profonde et atteint la moelle, la cicatrisation s'effectue sur chaque lèvre de la plaie et la soudure ne se produit pas comme l'a noté PARIS dans l'étude des greffes .

Lorsque l'on met en expérience un fragment d'assez grande taille composé d'ectosome et de choanosome, la majorité des cellules du tissu cicatriciel proviennent de l'écorce initiale . Celle-ci prolifère intensément dans sa région marginale et finit par englober l'ensemble de la moelle, y compris le tissu cicatriciel de la surface de section. Une partie du choanosome peut être rejetée sans inconvénient au cours de ce processus .

Si le fragment est plus petit, l'écorce de l'Eponge reconstituée possède une double origine : une région correspond au cortex initial et une autre dérive de la transformation du tissu cicatriciel et

d'une partie des cellules sous-jacentes . Dans les deux cas, la première réaction du " régénérat " est de reformer une écorce qui modèle la forme spécifique et isole le choanosome du milieu extérieur .

La structure histologique des régions situées au-dessous varie avec la taille du fragment mis en expérience . Si elle est assez importante, les tissus éloignés du plan de section ne sont pas complètement désintégrés et l'on observe une succession de zones d'aspect variable :

- tissu fibreux cicatriciel
- région compacte d'archaeocytes
- choanosome désintégré avec archaeocytes, polyblastes et choanocytes différenciés
- choanosome à peu près normal .

Au cours de la reconstitution, le massif d'archaeocytes situé au contact du tissu cicatriciel se différencie pour donner des éléments corticaux vers l'extérieur et des cellules du choanosome vers l'intérieur . Cette sorte de " blastème " permet la régénération de toute une partie de l'Eponge .

Dans le cas où le fragment de départ est plus petit, la désintégration de tous les tissus est de règle . Le tissu cicatriciel et la portion corticale d'origine entourent un complexe massif de cellules dans lequel les archaeocytes et les polyblastes sont mêlés à des choanocytes plus ou moins différenciés . La plupart de ces derniers entrent dans la lignée mésenchymateuse . Toute l'organisation de l'Eponge est à refaire à partir d'un ensemble d'éléments somatiques selon le processus décrit par TOKIN et son Ecole sous le terme d'embryogenèse somatique .

Le traumatisme initial a donc pour conséquence de désintégrer plus ou moins profondément les tissus des fragments d'Eponge

Les lophocytes d'origine essentiellement corticale, migrent vers les surfaces de section, suivis par des archaeocytes venant des régions profondes . Le " stock " de cellules totipotentes augmente par différenciation d'autres types, en particulier des choanocytes . Certains d'entre eux sont simplement phagocytés par des polyblastes . Cet accroissement du nombre des éléments mésenchymateux renforce les capacités de résistance des " régénérats " par rapport à des Eponges normales .

L'ectosome seul peut redonner une Eponge mais contrairement à ce qui a été constaté par VAILLANT chez Tethya lyncurium et par MAAS chez Chondrosia reniformis, le choanosome seul est incapable de reformer une Tethya .

Dans ce dernier cas, les lophocytes et les archaeocytes sont en nombre trop faible pour élaborer rapidement un néocortex à l'intérieur duquel se poursuivraient les remaniements tissulaires au cours des premiers stades de la reconstitution . Il existe un trop grand déséquilibre entre la quantité d'éléments mésenchymateux et celle des choanocytes qui dégènèrent au lieu de se différencier .

Si les migrations de cellules jouent un rôle important dans la reconstitution, comme le pense MAAS qui parle de simples " réarrangements cellulaires ", la néoformation de tissus à partir d'archaeocytes dont le nombre peut s'accroître, mérite d'être soulignée . Celle-ci est de règle lorsqu'une Tethya se reforme à partir d'un morceau d'ectosome qui ne possède pas de choanocytes .

Toute Eponge dérivant d'un fragment d'adulte se fixe au cours de sa réorganisation et acquiert la forme sphérique caractéristique de son individualité .

Lorsque les processus de reconstitution évoqués ci-dessus échouent, on assiste à une sorte de phénomène de réduction . Des cellules essentiellement mésenchymateuses (archaeocytes, lophocytes, cellules sphéruleuses) se groupent en amas bien individualisés qui s'isolent par un moyen quelconque de l'ensemble dégénérescent . Quelques choanocytes peuvent être entraînés dans ces complexes mais ils sont phagocytés par la suite .

Si l'on dissocie une Tethya par broyage à travers de la soie à bluter, la plupart des cellules se retrouvent dans la suspension, morphologiquement dédifférenciées . Elles conservent cependant leurs caractères structuraux et physiologiques . Toutes les catégories participent à la reconstitution qui se présente avant tout comme un phénomène de morphallaxis . Les archaeocytes interviennent en second lieu pour rétablir l'équilibre entre les différents types, soit en phagocytant les éléments en excès, soit en augmentant la quantité des éléments les moins nombreux .

La réunion des cellules, désordonnée au départ, se fait ensuite selon leurs affinités réciproques .

Seules les masses ayant une taille suffisamment petite et dérivant de suspensions cellulaires diluées sont susceptibles d'évoluer .

La première étape de la morphogenèse est l'acquisition d'un exopinacoderme se formant aux dépens des pinacocytes présents ainsi que de lophocytes et d'archaeocytes qui se modifient progressivement. La limitante inférieure, au contact du verre, permet la fixation et dérive d'une accumulation d'archaeocytes . Elle acquiera peu à peu l'aspect de la limitante supérieure .

Corbeilles et canaux apparaissent de très bonne heure mais subissent par la suite certains remaniements . La paroi du système

aquifère a une triple origine, comme l'exopinacoderme .

La différenciation du squelette organique engendré par des lophocytes est nettement insuffisante pour permettre la poursuite de la morphogenèse . La suspension utilisée provient en effet d'une dissociation du choanosome dans laquelle les lophocytes ne sont pas aussi abondants que dans l'ectosome . Nous avons d'autre part constaté que les archaeocytes prenaient une part très faible à la fibrogenèse . Ils engendrent quelques lophocytes mais leur rôle est avant tout de phagocyter les déchets ou les éléments en excès . Leur nombre est insuffisant et n'augmente pas aux dépens d'autres catégories cellulaires . Il y a là une différence fondamentale entre l'embryogenèse somatique de Tethya à partir de cellules dissociées et celle qui s'effectue à partir de fragments du corps .

En poursuivant pendant plusieurs années l'élevage en aquarium de bourgeons naturels et " expérimentaux ", nous avons réussi à obtenir tous les stades du développement . Nous pouvons ainsi affirmer que les sorites de Tethya sont d'authentiques éléments de la reproduction asexuée qui jouent un rôle de premier plan dans la propagation de l'espèce .

L'étude comparée de la morphogenèse à partir d'un bourgeon ou d'une infime portion du cortex (" filaments " fixateurs, apophyses, verrucosités) permet d'assimiler les bourgeons à des ensembles mésenchymateux ayant la même composition que l'ectosome et comprenant dès le départ, plusieurs catégories cellulaires . Trois d'entre elles paraissent fondamentales : les archaeocytes, les lophocytes et les cellules sphéruleuses . La proportion de ces différents types détermine le succès ou l'échec du développement .

L'apparition du bourgeonnement naturel semble liée à des con-

ditions physiologiques particulières, peut-être déterminées par certains facteurs climatiques . C'est ainsi que l'automne et l'hiver sont les saisons les plus favorables . Le nombre moyen et maximum de bourgeons par individu et par mois varie de la même manière que le nombre d'individus bourgeonnant en fonction des mois .

Les bourgeons "expérimentaux" apparaissent en général à la suite d'un traumatisme subi par l'Eponge et sont la conséquence directe d'une désintégration plus ou moins poussée des tissus . Celle-ci est à l'origine de remaniements qui changent la proportion des différentes catégories de cellules et augmentent en particulier le " stock " des archaeocytes . Une partie des éléments blastogénétiques provient donc de cellules somatiques ayant retrouvé un état embryonnaire . On peut ainsi parler d'un rajeunissement de l'Eponge .

Les archaeocytes migrent vers l'écorce accompagnés de lophocytes, en suivant les faisceaux de spicules . Nous n'avons pas observé la multiplication des archaeocytes dans l'ectosome au moment de l'apparition des bourgeons, mais il est fort possible que des divisions accroissent encore le nombre des cellules totipotentes à ce niveau .

La morphogenèse se caractérise par une série de différenciations dont la dernière est celle des choanocytes . Nous avons noté successivement :

- l'augmentation de la synthèse du collagène grâce à l'activité des lophocytes et des archaeocytes et la prolifération des strongylasters dont les scléroblastes proviennent de la mère ou se différencient dans le jeune bourgeon .
- l'évolution de nombreux archaeocytes vers des " cellules de transition " (au sens de MAAS), par modification des caractères nucléaires et cytoplasmiques au cours des déplacements, sans division

préalable . En même temps, se forment des collencytes aux dépens des lophocytes .

- la dispersion des cellules sphéruleuses initialement groupées en amas et l'apparition des premiers sphérasters dont les cellules-mères dérivent d'archaeocytes .

- la différenciation de plus en plus nette entre une zone corticale à densité cellulaire faible et une zone médullaire présentant les caractères inverses . De jeunes styles sont engendrés par des scléroblastes très peu différents des archaeocytes dont ils dérivent . Ils complètent le lot de mégasclères emportés de l'adulte .

- la disparition presque totale des cellules sphéruleuses, l'apparition de lacunes corticales bordées de pinacocytes, puis de lacunes médullaires volumineuses et la multiplication des archaeocytes engendrant les choanoblastes qui donnent à leur tour les choanocytes . Les corbeilles vibratiles se forment de la périphérie au centre de la moelle . Les jeunes choanocytes contiennent souvent de gros phagosomes hérités des éléments dont ils dérivent .

- l'organisation définitive du système aquifère, allant des pores de la surface à l'osculé apical .

Si Tethya lyncurium manifeste de grandes capacités de régénération et de reproduction asexuée grâce à l'intervention de ses éléments mésenchymateux, elle utilise ces derniers pour lutter contre les organismes étrangers et préserver son intégrité . Nous avons ainsi observé qu'un traumatisme lié à la présence d'un Crustacé inquilin ou parasite entraînait la modification de tout un territoire avec formation d'un tissu réactionnel . La mobilisation excessive des lophocytes et des archaeocytes migrant vers la loge occupée par l'inquilin est compensée par une dédifférenciation de certaines cellules du choanosome qui augmente le nombre des éléments totipotents .

Les spicules dont nous avons plusieurs fois souligné l'intervention au cours de ce travail, jouent un grand rôle dans le rejet des micro-organismes et des zones nécrosées de l'Eponge .

Nous avons tenu, en terminant ce travail, à comparer du simple point de vue de la reproduction asexuée, une Eponge calcaire (Sycon raphanus) et une Démosponge (Tethya lyncurium) . Les Spongiaires étant des Métazoaires acoelomates didermiques, l'étude de leur développement larvaire permet de distinguer un endoblaste donnant naissance aux choanocytes et un ectoblaste engendrant l'ectomésenchyme . Chez l'adulte, des cellules endodermiques peuvent pénétrer dans la substance fondamentale de l'ectomésenchyme et donner, par une série de transformations, un élément mésenchymateux typique . Le mésenchyme est alors un ecto- endomésenchyme . Chez des Eponges aussi simples que Sycon et Oscarella, on peut ainsi distinguer les choanocytes endodermiques, les pinacocytes ectodermiques, les cellules et la substance fondamentale du mésenchyme . Tethya, qui est beaucoup plus complexe, a un mésenchyme hypertrophié et ses pinacocytes ne jouent qu'un rôle très secondaire . Dans les phénomènes de régénération ou de reproduction asexuée , les Eponges calcaires font généralement intervenir les trois ensembles cellulaires, y compris les choanocytes . Chez Tethya au contraire, toutes les capacités morphogénétiques sont laissées aux cellules mésenchymateuses, en particulier aux archaeocytes et aux lophocytes sans intervention directe de l'endoderme .

B I B L I O G R A P H I E *

- ABELOOS M. (1952) . - La régénération et les problèmes de la Morphogenèse .
Actualités biologiques, Gauthiers-Villars Ed., Paris .
- ABELOOS M. (1965) . - L'histogenèse dans la régénération des Vers .
Proc. Regeneration in Animals ; North-Holl. Publ. CO.,
Amsterdam. 216-227 .
- AFZELIUS B.A. (1961) . - Flimmer-flagellum of the Sponge .
Nature, Lond., 191, (4795), 1318-1319 .
- AGRELL I. (1951) . - Observations on cell differentiation in Sponges.
Ark.Zool., sér. 2, 2, (4), 519-523 .
- ALLEMAND A. (1906) . - Etude de physiologie appliquée à la spon-
giculture sur les côtes de Tunisie .
Thèse, Fac. Sci. Lyon, 195 p.
- ARNDT W. (1935) . - Die Tierwelt der Nord- und Ostsee . III, a,
1-140 : Porifera .
Grimpe und Wagler, Leipzig, 1935 .
- BAGBY R.M. (1966) . - The fine Structure of Myocytes in the
Sponges Microciona prolifera (Ellis and Sollander) and Teda-
nia ignis (Duchassaing and Michellotti) .
J. Morph., 118, (2), 167-182 .
- BETCHAKU T. (1967) . - Isolation of Planarian Neoblasts and
Their Behavior in Vitro with some Aspects of the Mechanism
of the Formation of Regeneration Blastema .
J. exp. Zool., 164, (3), 407-434 .

* Les abréviations des périodiques sont conformes à celles utilisées dans le " World list of Scientific Periodicals (1900-1960), Butterworths, London, 1963 .

- BOROJEVIC R. (1963) . - Essai de reconstitution du choanoderme à partir d'une suspension choanocytaire d'Eponge acalcaire . C.r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, 257, 961-62 .
- BOROJEVIC R. (1966) . - Etude expérimentale de la différenciation des cellules de l'Eponge au cours de son développement . Devl Biol., 14, 130-153 .
- BOROJEVIC R. (1967) . La ponte et le développement de Polymastix robusta (Démospouges) . Cah. Biol. mar., 8, (1), 1-6 .
- BOROJEVIC R., FRY W.G., JONES W.C., LEVI C., RASMONT R., SARA M. et VACELET J. (1968) . - Mise au point actuelle de la terminologie des Eponges . Bull. Mus. Hist. nat., Paris, 2e sér., 39, (6), 1224-1235 .
- BOROJEVIC R. et LEVI C. (1964) . - Métamorphose artificielle de larves d'Eponges après dissociation et réagrégation des cellules larvaires . C.r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, 259, 4364-4366 .
- BOROJEVIC R. et LEVI C. (1964) . Etude au microscope électronique des cellules de l'Eponge Ophlitaspongia seriata (Grant), au cours de la réorganisation après dissociation . Z. Zellforsch. mikrosk. Anat., 64, 708-725 .
- BOROJEVIC R. et LEVI C. (1965) . - Morphogenèse expérimentale d'une Eponge à partir de cellules de la larve nageante dissociée . Z. Zellforsch. mikrosk. Anat., 68, 57-69 .
- BOROJEVIC R. et LEVI P. (1967) . - Le basopinacoderme de l'Eponge Mycale contarenii (Martens) . Technique d'étude des fibres extracellulaires basales . J. Microscopie, 6, (6), 857-862 .
- BOUILLON J. (1966) . - Les cellules glandulaires des Hydroïdes et des Hydroméduses . Leur structure et la nature de leurs sécrétions . Cah. Biol. mar., 7, 157-205 .
- BOWERBANK J.S. (1862) . - On the Anatomy and Physiology of the Spongiadae . Part. II . Phil. Trans. R. Soc., 747-836 .

- BOWERBANK J.S. (1864) . - A Monograph of the British Spongiadae . Vol. I., 1-290 .
Publ. for Ray Soc. by R. Hardwicke .
- BOWERBANK J.S. (1872) . - Contributions to a general History of the Spongiadae .
Proc. zool. Soc. Lond., I-III, 115-196 .
- BRADWAY W.E. (1936) . - A comparison of the inhibitory action of cations on the dispersion of the cell aggregates of the Sponge Haliclona sp.
Protoplasma, 25, 541-549 .
- BRIEN P. (1932) . - Contribution à l'étude de la régénération naturelle chez les Spongillidae .
Archs Zool. exp. gén., 74, (24), 462-506 .
- BRIEN P. (1937) . - La réorganisation de l'Eponge après dissociation par filtration et phénomènes d'involution chez Ephydatia fluviatilis .
Archs Biol., Liège, 48, 185-268 .
- BRIEN P. (1943) . - L'Embryologie des Eponges .
Bull. Mus. r. Hist. nat. Belg., 19, (16), 1-20 .
- BRIEN P. (1966) . - Biologie de la reproduction animale . Blastogénèse, Gamétogénèse, Sexualisation .
Masson et Cie Ed., Paris, 292 p.
- BRIEN P. (1967) . - Les Eponges . Leur nature métazoaire - Leur gastrulation - Leur état colonial .
Annls Soc. r. zool. Belg., 97, (4), 197-235 .
- BRIEN P. et MEEWIS H. (1938) . - Contribution à l'étude de l'embryogénèse des Spongillidae .
Archs Biol., Liège, 49, (2), 177-250 .
- BRIEN P. et RENIERS-DECOEN M. (1955) . - La signification des cellules interstitielles des Hydres d'eau douce et le problème de la réserve embryonnaire .
Bull. biol. Fr. Belg., 89, 258-325 .
- BRØNSTED H.V. (1936) . - Entwicklungsphysiologische Studien über Spongilla lacustris L.
Acta zool., Stockh., 17, 75-172 .

- BRØNDSTED H.V. (1953) . - The ability to differentiate and the size of regenerated cells, after repeated regeneration in Spongilla lacustris .
Q. Jl microsc. Sci., 94, 177-184 .
- BRØNDSTED H.V. (1955) . - Planarian regeneration .
Biol. Rev., 30, 65-126 .
- BRØNDSTED H.V. (1962) . - Entwicklungsphysiologie der Poriferen.
Fortschr. Zool., 14, 115-129 .
- BURNETT A.L. (1966) . - A model of growth and cell differentiation in Hydra .
Am. Nat., 100, (912), 165-190 .
- BURTON M. (1933) . - Sponges without collared cells
Nature, Lond., 132, 209-210
- BURTON M. (1948) . - The Ecology and Natural History of Tethya aurantium Pallas .
Ann. Mag. nat. Hist., 1, sér. 12, 122-130 .
- BURTON M. (1949) . - Non sexual reproduction in sponges with special references to a collection of young Geodia .
Proc. Linn. Soc. Lond., 160, 163-178 .
- BURTON M. (1963) . - A Revision of the Classification of the Calcareous Sponges .
British Museum (Natural History) . London
- CAMPBELL R.D. (1967) . - Tissue Dynamics of Steady State Growth in Hydra littoralis . II. Patterns of Tissue Movement.
J. Morph., 121, (1), 19-28 .
- CAMPBELL R.D. (1967) . - Tissue Dynamics of Steady State Growth in Hydra littoralis . III. Behavior of specific Cell Types during Tissue Movements .
J. exp. Zool., 164, (3), 379-392 .
- CASTRO-RODRIGUEZ G. et POURBAIX N. (1930) . - Présence du glycogène dans les organismes en régénération .
Congr. nation. Sci., Bruxelles, 757-762 .

- CHANDEBOIS R. (1957) . - Recherches expérimentales sur la régénération de la planaire marine Procerodes lobata O. Schmidt .
Bull. biol. Fr. Belg., 91, 1-94 .
- CHANDEBOIS R. (1965) . - Cell transformation systems in Planarians .
Proc. Regeneration in Animals ; North-Holl. Publ. Co., Amsterdam. 131-142 .
- CHERFILS R. (1953) . - Contribution à l'étude du bourgeonnement chez Tethya lyncurium .
Rec. Trav. Stn mar. Endoume, 11, (6), 1-32 .
- CHILD C.M. (1929) . - The physiological gradients
Protoplasma, 5, 447-476 .
- CONNES R. (1964) . - Contribution à l'étude de la prolifération par voie asexuée chez le Sycon .
Bull. Soc. zool. Fr., 89, (2-3), 188-195 .
- CONNES R. (1966) . - Aspects morphologiques de la régénération de Tethya lyncurium Lamarck .
Bull. Soc. zool. Fr., 91, (1), 43-53 .
- CONNES R. (1966) . - Contribution à l'étude histologique des premiers stades d'embryogenèse somatique chez Tethya lyncurium Lamarck
Bull. Soc. zool. Fr., 91, (4), 639-645
- CONNES R. (1967) . - Structure et développement des bourgeons chez l'Eponge siliceuse Tethya lyncurium Lamarck . Recherches expérimentales et cytologiques .
Archs Zool. exp. gén., 108, (2), 157-195 .
- CONNES R. (1967) . - Réactions de défense de l'Eponge Tethya lyncurium Lamarck, vis-à-vis des micro-organismes et de l'Amphipode Leucothoe spinicarpa Abildg.
Vie Milieu, sér. A, 18, (2), 281-289
- COTTE J. (1903) . - Contribution à l'étude de la nutrition chez les Spongiaires .
Bull. scient. Fr. Belg., 38, 420-573 .

- COTTE J. (1907) . - La spongiculture .
Revue scient., 2e sér., 8, (11), 332-338 .
- CURTIS A.S.G. (1962) . - Pattern and mechanism in the reaggregation of Sponges .
Nature, Lond., 196, (4851), 245-248 .
- DELAGE Y. et HEROUARD E. (1899) . - Traité de Zoologie concrète . 2. Mésozoaires et Spongiaires . 244 p.
Le Soudier Ed., Paris .
- DEVOS C. (1965) . - Le bourgeonnement externe de l'Eponge Mycale contarenii (Martens) (Démospouges) .
Bull. Mus. Hist. nat., Paris, 37, (3), 548-555 .
- DEZSO B. (1879) . - Die Histologie und Sprossenentwicklung der Tethyen besonders der Tethya lyncurium Lieberkühn (auctorum) .
Arch. mikrosk. Anat., 16, 626-651 .
- DEZSO B. (1879) . - Fortsetzung der Untersuchungen über Tethya lyncurium auctorum .
Arch. mikrosk. Anat., 17, 151-164 .
- DUBOIS F. (1949) . - Contribution à l'étude de la migration des cellules de régénération chez les Planaires dulcicoles .
Bull. biol. Fr. Belg., 83, 221-231 .
- DUBOSCQ O. et TUZET O. (1936) . - Les amœbocytes et les cellules germinales des Eponges calcaires .
Mém. Mus. r. Hist. nat. Belg., 2e sér., 3, 209-226 .
- DUBOSCQ O. et TUZET O. (1939) . - Les diverses formes de Choanocytes des Eponges calcaires hétérocoèles et leur signification .
Archs Zool. exp. gén., 80, (5), 353-388 .
- EBERL-ROTHER G. (1960) . - Über das Zwischengewebe der Wirbellosen Tiere . I. Spongien .
Thalassia jugosl., 2, (1), 1-32 .
- EFREMOVA S.M. (1967) . - The cell behaviour of the fresh-water sponge Ephydatia fluviatilis . A time-lapse microcinematography study .
Acta biol. hung., 18, (1), 37-46 .

- FAURE-FREMIET E. (1931) . - Etude histologique de Ficulina ficus L. (Demospongia) .
Archs Anat. microsc., 27, (3), 421-448 .
- FAURE-FREMIET E. (1932) . - Morphogenèse expérimentale (Reconstitution) chez Ficulina ficus L.
Archs Anat. micr., 28, (1), 1-80 .
- FAURE-FREMIET E. (1932) . - Involution expérimentale et tension de structure dans les cultures de Ficulina ficus .
Archs Anat. microsc., 28, (1), 121-157 .
- FEIGE W. (1966) . - Über breitflügelige Anhänge an der Choanocytengeißel von Spongilliden .
Naturwissenschaften, 23, 617-618 .
- FJERDINGSTAD E.J. (1961) . - The ultrastructure of choanocyte collars in Spongilla lacustris L.
Z. Zellforsch. mikrosk. Anat., 53, 645-657 .
- FREISLING M. und REISINGER E. (1958) . - Zur Genese und Physiologie von Restitutionskörpern aus Planarian-Gewebesbrei .
Arch. EntwMech. Org., 150, (5), 581-606 .
- GALTSOFF P. (1923) . - The amoeboid movement of dissociated sponge cells .
Biol. Bull., 45, 153-161 .
- GALTSOFF P. (1925) . - Regeneration after dissociation (an experimental study of Sponges) . I. Behaviour of dissociated cells of Microciona prolifera Ver. under normal and altered conditions .
J. exp. Zool., 42, 183-222 .
- GALTSOFF P. (1926) . - Regeneration after dissociation (an experimental study of Sponges) . II. Histogenesis of Microciona prolifera Ver.
J. exp. Zool., 42, 223-251 .
- GALTSOFF P. (1929) . - Heteroagglutination of dissociated Sponge cells .
Biol. Bull. , 57, 256-260 .

- GALTSOFF P. et PERTZOFF V. (1926) . - Some physico-chemical properties of dissociated sponge cells
J. gen. Physiol., 10, 239-255 .
- GANGULY B. (1960) . - The differentiating capacity of dissociated sponge cells
Wissch. Revue Anat. Embryol. Org., 112, 22-34 .
- GANGULY B. (1962) . - Property of cell aggregation in relation to pH
Proc. zool. Soc. Calcutta, 112, 111-118 .
- GASIC G.J. and GALANTI N.L. (1966) . - Proteins and Disulfide Groups in the Aggregation of Dissociated Cells of Sea Sponges
Science, N.Y., 151, (3707), 203-205 .
- GATENBY J.B., DALTON A.J. and FELIX M.D. (1955) . - The contractile vacuole of Parazoa and Protozoa, and the Golgi apparatus
Nature, Lond., 176, 301-305 .
- HAECKEL E. (1872) . - Die Kalkschwämme
Reimer, Ed., Berlin .
- HAYNES J. and BURNETT A.L. (1963) . - Dedifferentiation and redifferentiation of cells in Hydra viridis
Science, N.Y., 142, 1481-1483 .
- HERLANT-MEEWIS H. (1948) . - La gemmulation chez Suberites domuncula (Olivi) Nardo
Archs Anat. microsc. Morph. exp., 37, (4), 289-322 .
- HUMPHREYS T. (1962) . - The mechanism of sponge cell adhesions
Thesis, University of Chicago
- HUMPHREYS T. (1963) . - Chemical Dissolution and in Vitro Reconstruction of Sponge Cell Adhesions . I. Isolation and Functional Demonstration of the Components involved
Devl Biol., 8, (1), 27-47 .
- HUMPHREYS T. (1965) . - Cell surface components participating in aggregation : evidence for a new cell particulate
Expl Cell Res., 40, (3), 539-543 .

- HUMPHREYS T., HUMPHREYS S. and MOSCONA A.A. (1960).
Rotation-mediated aggregation of dissociated sponge cells .
Biol. Bull., 119, (2), 295 .
- HUMPHREYS T. and UEHARA M. (1964) . - The effect of inhibition of energy metabolism and protein synthesis on sponge cell aggregation .
Biol. Bull., 127, (2), 375-376 .
- HUXLEY J.S. (1911) . - Some phenomena of regeneration in Sycon, with a note on the structure of its collar cells.
Phil. Trans. R. Soc., sér. B, 202, 165-190 .
- HUXLEY J.S. (1921) . - Further studies on restitution-bodies and free tissue-culture in Sycon .
Q. Jl. microsc. Sci., 65, 293-322 .
- HUXLEY T. (1851) . - Zoological notes and observations made on board H.M.S. " Rattlesnake " during the years 1844-50 .
On the anatomy of the genus Tethya .
Ann. Mag. nat. Hist., 2e sér., 7, 370-373 .
- HYMAN L.H. (1940) . The invertebrates : Protozoa through Ctenophora .
Mc Graw Hill Ed., New York, 726 p.
- JAKOWSKA S. and NIGRELLI R.F. (1960) . - Antimicrobial substances from sponges .
Ann. N.Y. Acad. Sci., 90, 913-916 .
- JONES W.C. (1957) . - The contractility and healing behaviour of pieces of Leucosolenia complicata .
Q. Jl microsc. Sci., 98, (2), 203-217 .
- JONES W.C. (1967) . - Sheath and axial filament of calcareous sponge spicules .
Nature, Lond., 214, (5086), 365-368 .
- KIDO T. and KISHIDA Y. (1963) . - (En japonais) . On the reaggregation of dissociated sponge cells .
Ann. Rep. Noto mar. Lab., 3, 22-29 .

- KIDO T., KISHIDA Y., ASAKURA K. and YAMADA M. (1965).
(En japonais) . The Relation Between the Reaggregation Pattern and the Concentration of Cells Dissociated from Callispongia elongata .
Ann. Rep. Noto mar. Lab., 5, 3-8
- KIDO T. and ONITAKE K. (1966) . -(En japonais) . Preliminary Note on the Fine Structure of the Aggregates Made of the Dissociated Sponge Cells
Ann. Rep. Noto mar. Lab., 6, 9-15 .
- KILIAN E.F. (1954) . - Die Feinstruktur des Kragens bei den choanocyten der Spongilliden
Ber. oberhess. Ges. Nat.-u. Heilk., 27, 85-89 .
- KOLLMANN M. (1908) . - Recherches sur les leucocytes et le tissu lymphoïde des invertébrés
Annls Sci. nat., sér. 9, 8, 1-240 .
- KOROTKOVA G.P. (1961) . - Regeneration and somatic embryogenesis in the calcareous sponge Leucosolenia complicata Mont.
Acta biol. hung. 11, (4), 315-334 .
- KOROTKOVA G.P. (1962) . - En russe (Régénération et embryogenèse somatique chez l'Eponge cornéo-siliceuse coloniale Halichondria panicea) .
Vest. lenigr. gos. Univ., 17, (15), 33-45 .
- KOROTKOVA G.P. (1962) . - Behaviour of the cellular elements in the calcareous sponge Leucosolenia complicata Mont. during regeneration .
Acta biol. hung., 13, (1), 1-30 .
- KOROTKOVA G.P. (1963) . - En russe (Régénération et embryogenèse somatique chez les Eponges calcaires du type Sycon) .
Vest. lenigr. gos. Univ., 18, (3), 34-47 .
- KOROTKOVA G.P. (1963) . - On the types of restoration processes in sponges .
Acta biol. hung., 13, (4), 389-406 .
- KOROTKOVA G.P., EFREMOVA S.M. et KADANCEVA A.G.
(1965) . - En russe (Particularités de la morphogenèse lors du développement de Sycon lingua à partir de petits fragments du corps) .
Vest. lenigr. gos. Univ., 20, (21), 14-30 .

- KOROTKOVA G.P. et VOLKOVA G.A. (1960) . - En russe (Expériences sur la régénération des Eponges d'eau douce) .
Vest. leningr. gos. Univ., 15, (9), 125-130 .
- KORSCHOLT E. (1927) . - Regeneration und Transplantation .
Borntraeger Ed., Berlin .
- LAUBENFELS M.W. de (1927) . - Bi-specific conglomerations of sponges.
Yb. Carnegie Instn Wash., 26, 219-222 .
- LAUBENFELS M.W. de (1928) . - Interspecific grafting, using sponge cells .
J. Elisha Mitchell scient. Soc., 44, (1), 82-86 .
- LAUBENFELS M.W. de (1936) . - Morphology and Physiology of Sponges .
Rep. Tortugas Lab., 35, 86-87 .
- LE MOIGNE A., SAUZIN M.J. et LENDER T. (1966) . - Comparaison de l'ultrastructure du néoblaste et de la cellule embryonnaire des Planaires d'eau douce .
C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, 263, 627-629 .
- LENDENFELD R. von (1898) . - Die Clavulina der Adria .
Nova Acta Acad. Caesar. Leop. Carol., 69, 1-251 .
- LENDER T. (1965) . - La régénération des Planaires .
Proc. Regeneration in Animals ; North-Holl. Publ. Co., Amsterdam. 95-111 .
- LENDER T. (1967) . - Quelques recherches récentes sur les cellules de régénération des Planaires d'eau douce .
Bull. Soc. zool. Fr., 92, (2), 309-311 .
- LENTZ T.L. (1965) . - The fine structure of differentiating interstitial cells in Hydra .
Z. Zellforsch. mikr. Anat., 67, (4), 547-560 .
- LEVEAUX M. (1939) . - La formation des gemmules chez les Spongillidae .
Annls Soc. r. zool. Belg., 70, 53-96 .

- LEVI C. (1956) . - Etude des Halisarca de Roscoff . Embryologie et systématique des Démosponges .
Archs Zool. exp. gén., 93, 1-184 .
- LEVI C. (1960) . - Reconstitution du squelette de l'Eponge Ophlitaspongia seriata (Grant) à partir de suspensions cellulaires .
Cah. Biol. mar., 1, (4), 353-358 .
- LEVI C. (1963) . - Scléroblastes et spiculogénèse chez une Eponge siliceuse .
C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., 256, (2), 497-8 .
- LEVI C. (1964) . - Ultrastructure de la larve Parenchymella de Démosponge . I. Mycale contarenii (Martens)
Cah. Biol. mar., 5, (1), 97-104 .
- LEVI C. (1966) . - Le glycogène chez les Spongiaires .
C. r. Séanc. Soc. Biol., 160, (3), 651-652 .
- LEVI C. et PORTE A. (1962) . - Etude au microscope électronique de l'Eponge Oscarella lobularis Schmidt et de sa larve amphiblastula .
Cah. Biol. mar., 3, (3), 307-315 .
- LIACI L. (1963) . - Ricerche morfologiche e citochimiche sui tessuti di Aaptos aaptos O.S. (Demospongiae)
Atti Soc. pelorit. Sci. fis. mat. nat., 9, (1-2), 189-197 .
- LIACI L. (1964) . - Differenze nella pigmentazione di due forme di Tethya aurantium (Pallas) Gray (Porifera) .
Atti Soc. pelorit. Sci. fis. mat. nat., 10, (4), 569-572 .
- MAAS O. (1901) . - Die Knospenentwicklung der Tethya und ihr Vergleich mit der geschlechtlichen Fortpflanzung der Schwämme .
Z. wiss. Zool., 70, 263-288 .
- MAAS O. (1901) . - Ueber Entstehung und Wachstum der Kieselgebilde bei Spongien .
Sber. bayer. Akad. Wiss., 30, 553-569 .
- MAAS O. (1907) . - Ueber die Wirkung des Hungers und der Kalkenziehung bei Kalkschwämmen und anderen kalkausscheidenden Organismen .
Sber. Ges. Morph. Physiol. Münch., 23, 82-89 .

- MAAS O. (1910) . - Ueber Nichtregeneration bei Spongien .
Arch. EntwMech. Org., 30, 356-378 .
- MAAS O. (1910) . - Ueber Involutionerscheinungen bei Schwämmen und ihre Bedeutung für die Auffassung des Spongienkörpers .
Festschr. z. 60 Geburtst. R. Hertwigs, 3, 93-130 .
- MacLENNAN A.P. (1963) . - The sponge cell surface in relation to aggregation specificity .
Biochem. J., 89, (3), 99 p.
- MacLENNAN A.P. and DODD R.Y. (1967) . - Promoting activity of extracellular materials on sponge cell reaggregation .
J. Embryol. exp. Morph., 17, (3), 473-480 .
- MARGOLIASH E., SHENCK J.R., HARGIE M.P., BUROKAS S., RICHTER W.R., BARLOOW G.H. and MOSCONA A.A. (1965) . - Characterization of specific cell aggregating materials from sponge cells .
Biochem. biophys. Res. Commun., 20, (4), 383-388 .
- MEEWIS H. (1936) . - Contribution à l'étude histologique des Eponges d'eau douce : Spongilla lacustris L., Ephydatia fluviatilis L.
Mém. Mus. r. Hist. nat. Belg., 2e.sér., 3, 519-537 .
- MEREJKOWSKY C. (1879) . - Reproduction des Eponges par bourgeonnement extérieur .
Archs Zool. exp. gén., 8, 417-427 .
- MERGNER H. (1964) . - Über die Induktion neuer Oscularrohre bei Ephydatia fluviatilis .
Wilhelm Roux Arch. EntwMech. Org., 155, 9-128 .
- MERGNER H. (1966) . - Zum Nachweis der Artspezifität des Induktionsstoffes bei Oscularrohrneubildungen von Spongilliden .
Verh. dt. zool. Ges., 30, (suppl.), 521-564 .
- MINCHIN E.A. (1900) . - Sponges . In : Treatise on Zoology, E. Ray Lankester . Adam and Charles Black Ed., London.
178 p.
- MOOKERJEE S. and GANGULY B. (1964) . - Contact reaction of cells in sponge aggregation .
Wilhelm Roux Arch. EntwMech. Org., 155, 525-534 .

- MOOKERJEE S., GANGULY B. and GOURI C.V. (1965) . -
Action of Penicillin on Cell Aggregation of Sponges .
Indian J. exp. Biol., 3, (1), 1-4 .
- MOOKERJEE S. and MAKHIJA S. (1966) . - Cell Transformations during Sponge Morphogenesis .
Indian J. exp. Biol., 4, (2), 79-87 .
- MOSCONA A.A. (1963) . - Studies on cell aggregation: demonstration of materials with selective cell-binding activity .
Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A., 49, (5), 742-747 .
- MÜLLER K. (1911) . - Beobachtungen über Reduktionsvorgänge bei Spongilliden, nebst Bemerkungen zu deren äusserer Morphologie und Biologie .
Zool. Anz., 37, (5), 114-121 .
- MÜLLER K. (1911) . - Das Regenerationsvermögen der Süßwasserschwämme, insbesondere Untersuchungen über die bei ihnen vorkommende Regeneration nach Dissociation und Reunion .
Arch. EntwMech. Org., 32, (3), 397-446 .
- NIGRELLI R.F., JAKOWSKA S. and CALVENTI J. (1959) . - Ectyonin, an antimicrobial agent from the sponge, Microciona prolifera Verril .
Zoologica, N.Y., 44, (4), 173-176 .
- PARIS J. (1957) . - Greffes homoplastiques et bourgeonnement expérimental chez Tethya lyncurium Lamarck .
C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, 245, 578-580 .
- PARIS J. (1961) . - Greffes et sérologie chez les Eponges siliceuses .
Vie Milieu, suppl. 11, 1-74 .
- PAVANS DE CECCATTY M. (1955) . - Le système nerveux des Eponges calcaires et siliceuses .
Annls Sci. nat., Zool. Biol. anim., 11e. sér., 17, 203-288.
- PAVANS DE CECCATTY M. (1957) . - La nature sécrétoire des lophocytes de l'Eponge siliceuse Chondrosia reniformis Nardo .
C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, 244, 2103-2105 .
- PAVANS DE CECCATTY M. (1960). - Les structures cellulaires de type nerveux et de type musculaire de l'Eponge siliceuse Tethya lyncurium Lamarck .
C.r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, 251, 1818-1819 .

- PAVANS DE CECCATTY M. (1962) . - Système nerveux et intégration chez les Spongiaires .
Annls Sci.nat., Zool. Biol.anim., 12e.sér., 4, (1), 127-137 .
- PAVANS DE CECCATTY M. (1966) . - Ultrastructures et rapports des cellules mésenchymateuses de type nerveux de l'Eponge Tethya lyncurium Lmk .
Annls Sci.nat., Zool. Biol. anim., 12e. sér., 8, (4), 577-597 .
- PAVANS DE CECCATTY M. , CARGOUIL M. et CORABOEUF E. (1961) . - Les réactions motrices de l'Eponge Tethya lyncurium (Lmk) à quelques stimulations expérimentales .
Vie Milieu, 11, (4), 594-600 .
- PAVANS DE CECCATTY M. et THINEY Y. (1964) . - Essai d'interprétation de la fibrogenèse cellulaire du collagène, chez l'Eponge Tethya lyncurium Lmk .
Vie Milieu, suppl. 17, 129-146 .
- PAVANS DE CECCATTY M. et THINEY Y. (1964) . - Données complémentaires sur l'origine et la fibrogenèse du collagène chez l'Eponge Tethya lyncurium Lmk .
J. Microscopie, 3, (1), 46-47 .
- POLICARD A. (1964) . - Cellules vivantes et populations cellulaires
Masson et Cie. Ed., Paris, 196 p.
- PRELL H. (1915) .- Zur Kenntnis der Gemmulae bei marinen Schwämmen .
Zool. Anz., 46, (4), 97-116 .
- RASMONT R. (1959) . - L'ultrastructure des choanocytes d'Eponges
Annls Sci.nat., Zool.Biol.anim., 12e.sér., 1, (2), 253-262 .
- RASMONT R. (1961) . - Physiologie de la reproduction asexuée des Spongillides .
Bull.Soc. zool. Fr., 86, (5), 630-645 .
- RASMONT R., BOUILLON J., CASTIAUX P. et VANDERMERS-CHE G. (1957) . - Structure submicroscopique de la collerette des choanocytes d'Eponges .
C.r. hebd.Séanc. Acad. Sci , Paris, 245, 1571-1574 .
- ROSE S.M. (1957). - Cellular interaction during differentiation .
Biol. Rev., 32, 341-382 .

- RUTHMANN A. (1965) . - The fine structure of RNA-storing archaeocytes from gemmules of fresh-water sponges .
Q. Jl microsc. Sci., 106, (1), 99-114 .
- RUUGE E.K. (1962) . - En russe (Modification de la vitesse d'agregation des Eponges Halichondria panicea, en rapport avec la teneur de l'eau de mer en D20) .
Biofizika, 7, (5), 632-633 .
- SANYAL S. (1967) . - Cellular dynamics in the morphogenesis of Hydra during bud development and regeneration .
Anat. Anz., 120, (1), 1-13
- SARA M. (1956) . - Esperienze di aggregazione cellulare mista dopo dissociazione nelle Calcispongie .
Boll. Zool., 23, (2), 113-119
- SARA M. (1965) . - Aggregazione cellulare interspecifica fra specie diverse di Poriferi e fra Poriferi ed Anemonia sulcata .
Boll. Zool., 32, (2), 1067-1077 .
- SARA M. (1965) . - Mitotic Activity during Cell Reaggregation of Sponges
Naturwissenschaften, 17, 503-504
- SARA M. (1966) . - Sviluppo degli aggregati in colture cellulari monospecifiche e bispecifiche di Tethya citrina e Haliclona elegans (Demospongiae)
Boll. Zool., 33, (1), 180 .
- SARA M., LIACI L. e MELONE N. (1966) . - Mixed Cell Aggregation between Sponges and the Anthozoan Anemonia sulcata .
Nature, Lond., 210, (5041), 1168-1169 .
- SARA M. e MELONE N. (1965) . - Una nuova specie del genere Tethya, T. citrina, sp. n. dal Mediterraneo (Porifera, Demospongiae) .
Atti Soc. pelorit. Sci. fis. mat. nat., 11, (suppl.), 123-138 .
- SAUZIN M.J. (1966) . - Etude au microscope électronique du néoblaste de la Planaire Dugesia gonocephala (Turbellarié Triclade)
C. r. hebdo. Séanc. Acad. Sci., Paris, 263, 605-608 .
- SCHMIDT O. (1868) . - Die Spongien der Küste von Algier.
Drittes Suppl.

- SCHMIDT O. (1875) . - Zur Orientirung über die Entwicklung der Spongien .
Z. wiss. Zool., 25, 139 .
- SELENKA E. (1880) . - Über einen Kieselschwamm von achtstrahligen Bau und über Entwicklung der Schwammknospen .
Z. wiss. Zool., 33 .
- SIMONS J.R. (1963) . - The adhesion and coalescence of sponge cells after dissociation .
Proc. Linn. Soc. N.S.W., 88, 28-34 .
- SIMPSON T.L. (1963) . - The biology of the marine sponge Microciona prolifera (Ellis and Solander) . I. A study of cellular function and differentiation .
J. exp. Zool., 154, (1), 135-152 .
- SIMPSON T.L. (1968) . - The Structure and Function of Sponge Cells : New Criteria for the Taxonomy of Poecilosclerid Sponges (Demospongiae)
Bull. Peabody Mus. nat. Hist., 25, 1-141 .
- SIVARAMAKRISHNAN V.R. (1951) . - Studies on early development and regeneration in some indian marine sponges .
Proc. Indian Acad. Sci., Sect.B, 34, 273-310 .
- SOLLAS W.S. (1888) . - Report on the Tetractinellida collected by H.M.S. Challenger during the years 1873-1876 .
Rep. scient. Results Challenger, 25, 458 p.
- SPIEGEL M. (1954) . - The role of a specific surface antigens in cell adhesion . I. The reaggregation of sponge cells .
Biol. Bull., 107, (1), 130-148 .
- SPIEGEL M. (1955) . - The reaggregation of dissociated Sponge cells .
Ann. N.Y. Acad. Sci., 60, (7), 1056-1076 .
- STEPHAN-DUBOIS F. (1952) . - Migration et potentialités histogénétiques des cellules indifférenciées chez les Hydres, les Planaires et les Oligochètes .
Année biol., 27, 734-753 .
- STEPHAN-DUBOIS F. (1965) . - Les néoblastes dans la régénération chez les Planaires .
Proc. Regeneration in Animals ; North-Holl. Publ. Co., Amsterdam. 112-130

- TANAKA H. (1931) . - Reorganisation in regenerating pieces of *Coeloplana* .
Mem. Coll. Sci. Kyoto Univ., sér. B, 7, 223-273 .
- TARDENT P. (1963) . - Regeneration in the Hydrozoa
Biol. Rev., 38, (3), 293-333 .
- TARDENT P. (1964) . - Developmental aspects of regeneration in Coelenterates .
Proc. Regeneration in Animals, North-Holl. Publ. Co., Amsterdam, 71-88
- THOUVENY Y. (1967) . - Les systèmes histogénétiques et la différenciation cellulaire dans la morphogenèse des Annélides Polychètes .
Archs Zool. exp. gén., 108, (3), 347-386 .
- TOKIN B.P. (1963) . - Regeneration and somatic embryogenesis
Symp. biol. hung., 3, 11-46 .
- TOKIN B.P., ERICHEVA F.N. et KALININA E.I. (1961) . -
En russe (Régénération, embryogenèse somatique et phénomènes connexes chez Laomedea flexuosa et d'autres Coelentérés (Cnidaires) primitifs) .
Acta morph. hung., 10, (2-4), 135-208
- TOPSENT E. (1888) . - Sur les gemmules de quelques Silicisponges marines
C.r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, 106, 1298-1300 .
- TOPSENT E. (1900) . - Etude monographique des Spongiaires de France. III. Monaxonida (Hadromerina) .
Archs Zool. exp. gén., 3^e sér., 2, 1-331 .
- TREGOUBOFF G. (1942) . - Contribution à la connaissance des larves planctoniques d'Eponges .
Archs Zool. exp. gén., 82, (6), 357-399 .
- TRIGHT H. Van (1912) . - A contribution to the physiology of the fresh-water sponges .
Tijdschr. ned. dierk. Vereen., 17, 1-220 .

- TUZET O. (1932) . - Recherches sur l'histologie des Eponges :
Reniera elegans et Reniera simulans .
Archs Zool. exp. gén., 74, (10), 169-192 .
- TUZET O. (1945) . - Sur les agrégats de choanocytes et la ques-
tion de la Proterospongia .
Archs Zool. exp. gén., 84, (4), 225-238 .
- TUZET O. et CONNES R. (1964) . - Sur la présence de lopho-
cytes chez les Sycon .
C. r. hebdomadaire Séances Acad. Sci., Paris, 258, 4142-4143 .
- TUZET O. et PARIS J. (1963) . - Recherches sur la régénéra-
tion de Sycon raphanus O.S.
Vie Milieu, 14, (2), 285-291 .
- TUZET O. et PARIS J. (1964) . - Réactions tissulaires de l'E-
ponge Suberites domuncula (Olivi) Nardo, vis-à-vis de ses
commensaux et parasites .
Vie Milieu, suppl. 17, 147-155 .
- TUZET O. et PAVANS DE CECCATTY M. (1955) . - La mobi-
lisation en amœbocytes des cellules des Halisarca (Eponges
siliceuses) . Les polyblastes chez les Eponges .
C. r. Séances Soc. Biol., 149, 799-801 .
- TUZET O. et PAVANS DE CECCATTY M. (1958) . - La sper-
matogenèse, l'ovogenèse, la fécondation et les premiers sta-
des du développement d'Hippospongia communis Lmk. (= H. equina O.S.) .
Bull. biol. Fr. Belg., 92, (4), 333-348 .
- TUZET O., PAVANS DE CECCATTY M. et PARIS J. (1963) . -
Les Eponges sont-elles des colonies ?
Archs Zool. exp. gén., 102, (I), 14-19 .
- VACELET J. (1964) . - Etude monographique de l'Eponge calcai-
re Pharétronide de Méditerranée, Petrobiona massiliana
Vacelet et Lévi . Les Pharétronides actuelles et fossiles .
Thèse, Faculté Sciences, Aix-Marseille .
- VACELET J. (1966) . - Les cellules contractiles de l'Eponge cor-
née Verongia cavernicola Vacelet .
C. r. hebdomadaire Séances Acad. Sci., Paris, 263, 1330-1332 .

- VACELET J. (1967) . - Les cellules à inclusions de l'Eponge cornée Verongia cavernicola Vacelet
J. Microscopie, 6, (2), 237-240
- VAILLANT L. (1869) . - Note sur la vitalité d'une Eponge de la famille des Corticatae, la Tethya lyncurium .
C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, 68, 88-89 .
- VASSEUR G. (1879) . - Reproduction asexuelle de la Leucosolenia botryoides .
Archs Zool. exp. gén., 8, 59-65 .
- VORONTSOVA M.A. and LIOSNER L.D. (1960) . - Asexual Propagation and Regeneration .
Pergamon Press., 489 p.
- WELTNER W. (1893) . - Spongillidenstudien II. Über den Bau der Gemmulae einheimischer Spongilliden .
Arch. Naturgesch., 59, 245-282 .
- WILLMER E.N. (1960) . - Cytology and Evolution .
Academic Press, New York .
- WILSON H.V. (1894) . - Observations on the gemmula and egg-development of marine sponges .
J. Morph., 9, 277-388 .
- WILSON H.V. (1911) . - Development of sponges from dissociated tissue cells .
Bull. Bur. Fish., Wash., 30, 1-30
- WILSON H.V. (1907) . - On some phenomena of coalescence and regeneration in sponges .
J. exp. Biol., 5, 245-258
- WOLFF E. (1967) . - Les matériaux et les mécanismes de la régénération chez les Planaires .
Bull. Soc. Zool. Fr., 92, (2), 273-286 .
- YAZYKOV A.A. (1965) . - En russe (Les antigènes de surface dans l'agregation des cellules des Eponges Halichondria panicea (Pallas) et Reniera cinerea (Grant) .
Zh. obshch. Biol., 26, (1), 96-101 .

YAZYKOV A.A. (1965) . - En russe (Agrégation des cellules dissociées chez les Eponges Reniera cinerea, Halichonaria panicea et Ephydatia fluviatilis et aptitude des complexes multicellulaires formés à la reconstitution d'un organisme entier) .
Zh. obshch. Biol., 26, (6), 690-693 .

YAZYKOV A.A. (1967) . - En russe (Influence des anticorps poly- et monovalents sur les interactions cellulaires de l'Eponge Ephydatia fluviatilis) .
Zh. obshch. Biol., 28, (2), 231-236 .

PLANCHES HORS-TEXTE

I - XVII : Tethya lyncurium

XVIII - XIX : Sycon raphanus

PLANCHE I

ULTRASTRUCTURE DES CHOANOCYTES

- A. (x 29.700) : Deux choanocytes contenant très peu d'inclusions.
- B. (x 8.100) : Fragment d'une corbeille avec choanocytes riches en inclusions de structures diverses.
- C. (x 21.000) : Base de la collerette d'un choanocyte avec microfibrilles (↗).
- D. (x 37.800) : Coupe transversale du corpuscule basal.
- E. (x 27.900) : Coupe longitudinale de l'apex d'un choanocyte avec traînée osmiophile (↗) réunissant corpuscule basal et appareil de Golgi.
- F. (x 21.000) : Jeune choanocyte dont le flagelle est en grande partie interne.

C.b.: corpuscule basal - Fl.: flagelle - G.: appareil de Golgi -
G.I.: grande inclusion - M.: mitochondrie - M.b.: mésoglée
basale - N.: noyau - Sph.gr.: sphérule granuleuse -
V.: vacuoles - V.c.: villosités de la collerette.

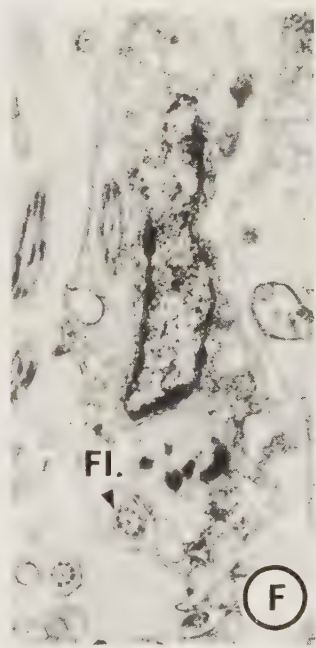
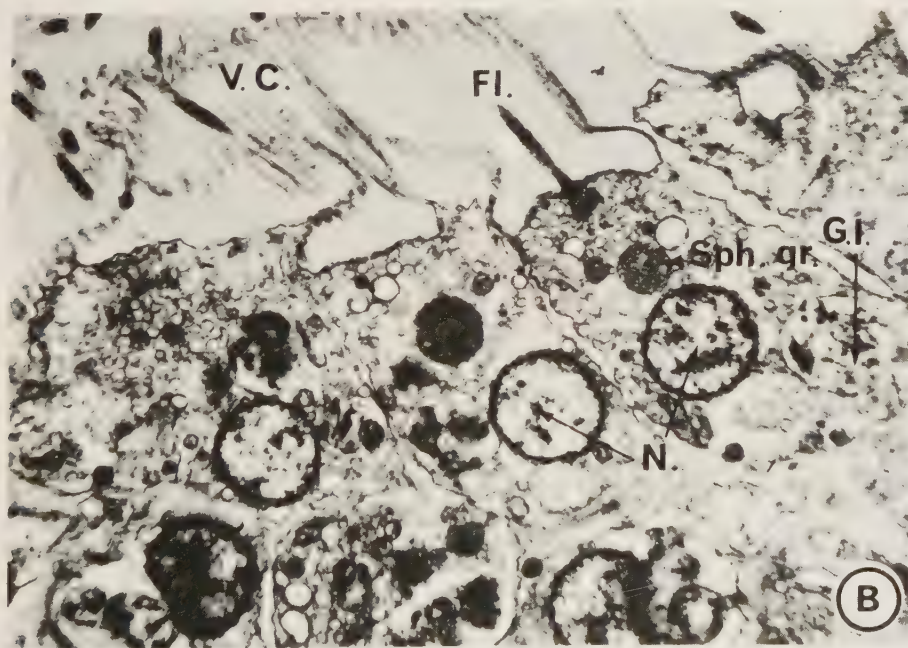
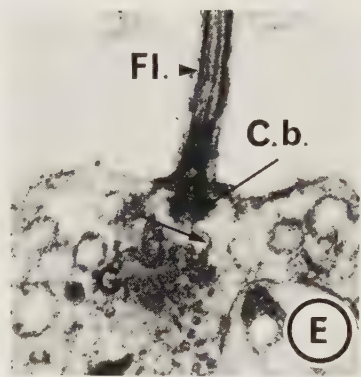
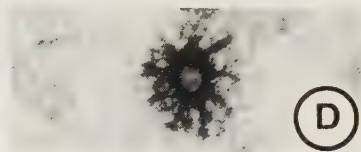
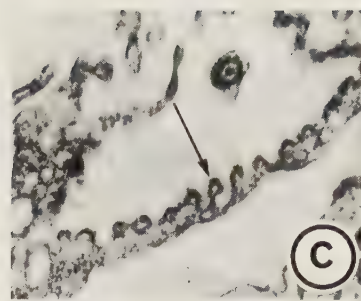
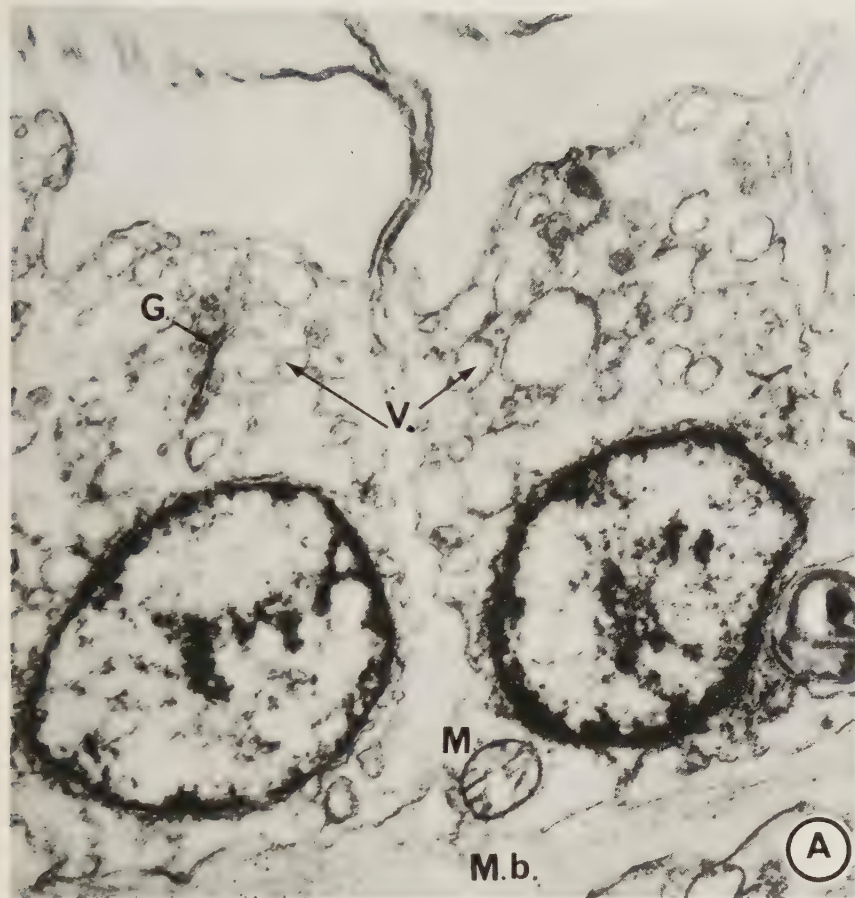


PLANCHE II

ULTRASTRUCTURE DES POLYBLASTES ET DES AMOEBOCYTES

A. (x 21.000) : Polyblaste de la zone médullaire possédant déjà deux phagosomes.

B. (x 21.000) : Polyblaste en déplacement émettant des pseudopodes.

C. (x 14.400) : Amoebocyte.

C.m.v.: corps multivésiculaires - G.: appareil de Golgi -
M.: mitochondrie - R.: ribosomes

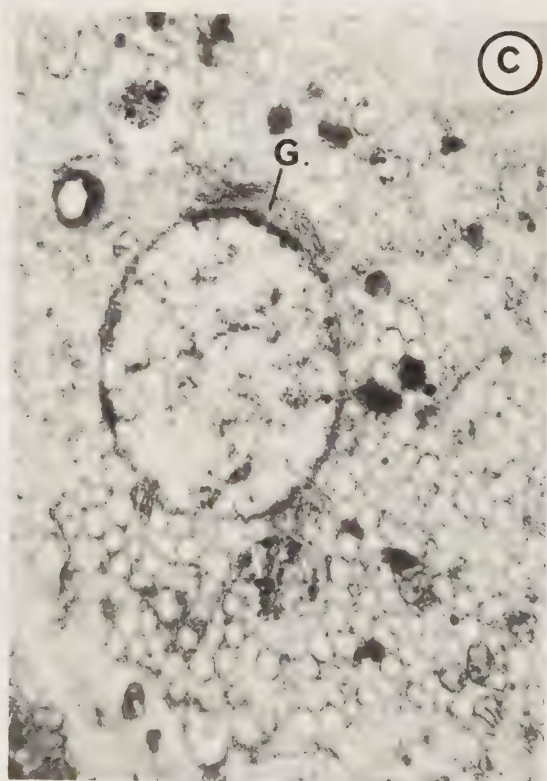
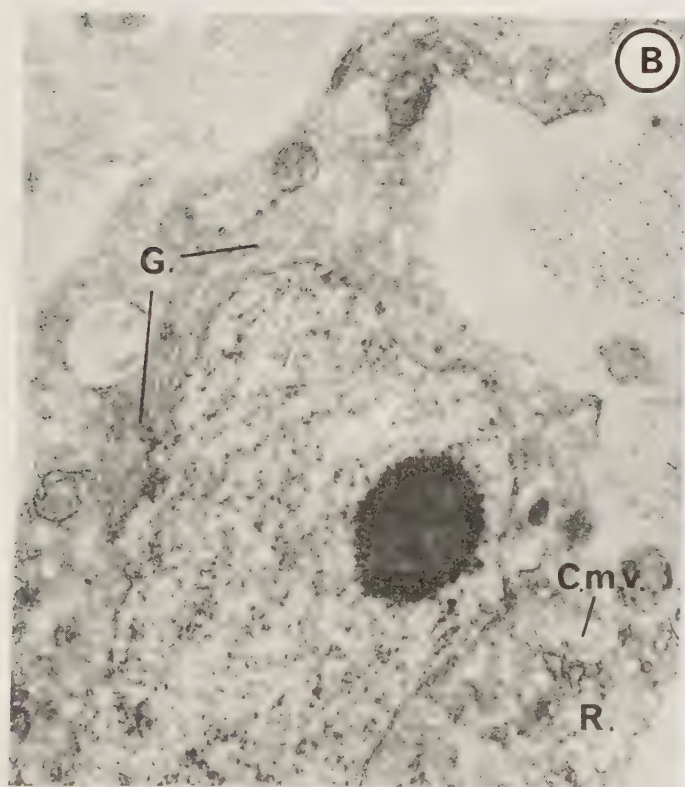


PLANCHE III

ULTRASTRUCTURE DES ARCHAEOCYTES
ET DES LOPHOCYTES

A. (x 21.000) : Archaeocyte en phagocytose.

B. (x 27.900) : Archaeocyte renfermant différents types
d'inclusions.

C. (x 21.000) : Lophocyte en fibrogenèse (↑).

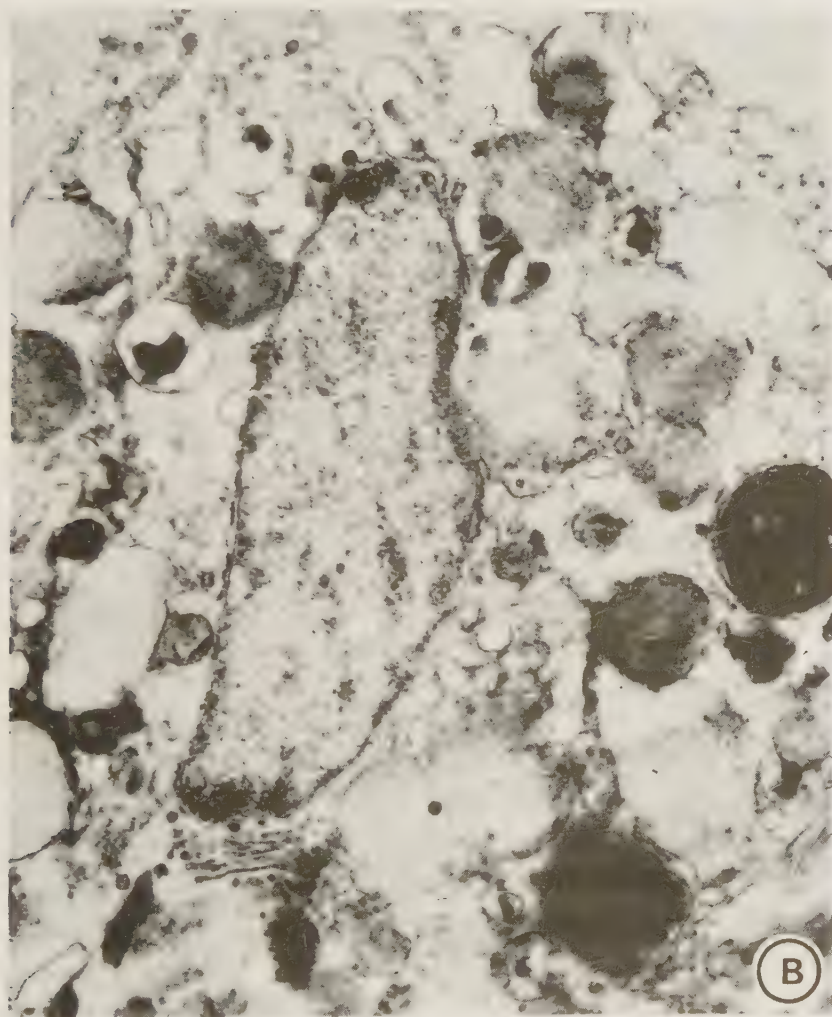
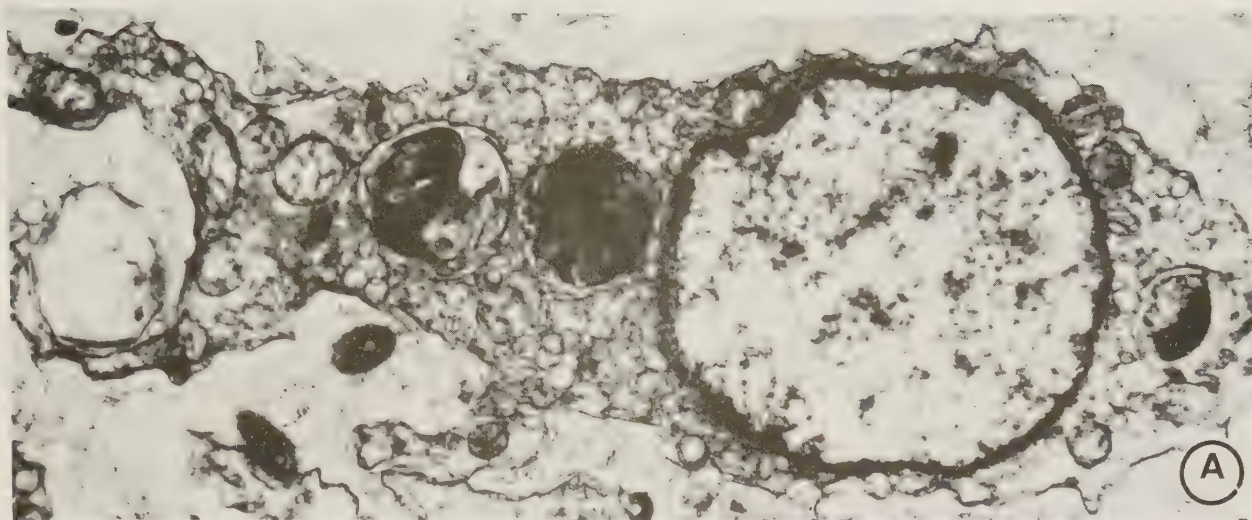


PLANCHE IV

ULTRASTRUCTURE DES ARCHAEOCYTES

- A. (x 21.000) : Archaeocyte en déplacement et en active fibrogenèse.
- B. (x 18.900) : Formation de corps multivésiculaires dans la région golgienne d'un jeune archaeocyte.
- C. (x 21.000) : Désintégration d'un archaeocyte au sein de la mésoglée.

C.m.v.: corps multivésiculaire - N.d.: noyau dégénérescent -
Ph.: phagosome.

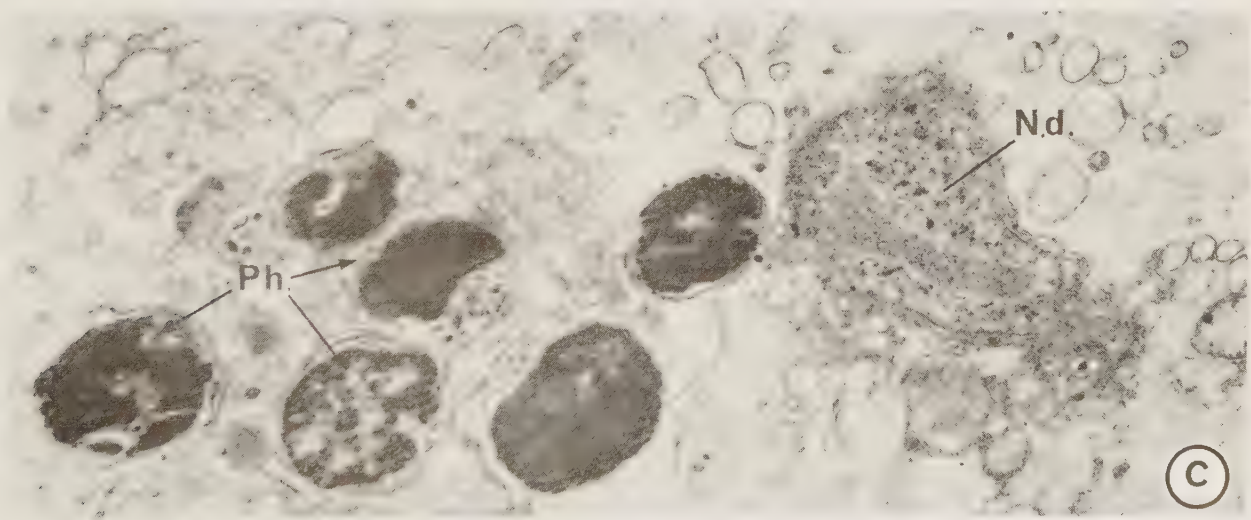
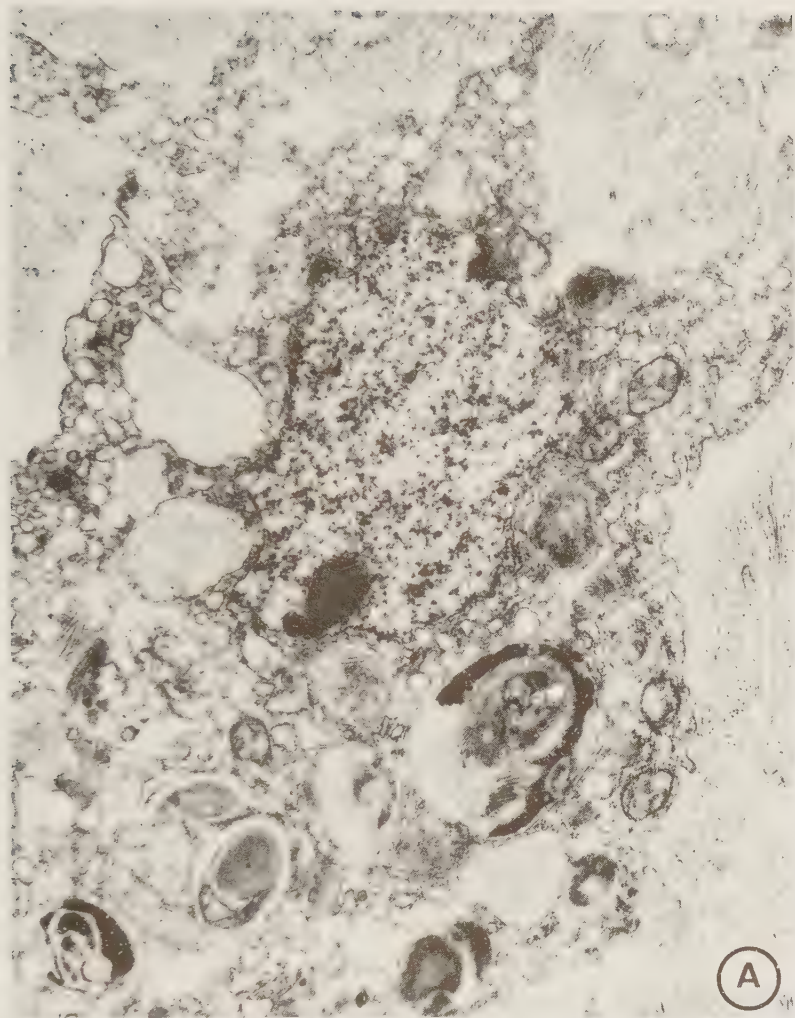


PLANCHE V

ULTRASTRUCTURE DES ARCHAEOCYTES

- A. (x 7.000) : Archaeocytes et choanocytes au moment de la formation des corbeilles dans une jeune Eponge.
- B. (x 40.000) : Phagosome typique à structure complexe.
- C. (x 41.700) : Phagosome dégradé rappelant le contenu vacuolaire d'une cellule sphéruleuse.
- D. (x 22.000) : Jeune amœbocyte reformé après désintégration d'une cellule beaucoup plus grosse.
- E. (x 27.900) . Inclusion fibrillaire de certains archaeocytes.

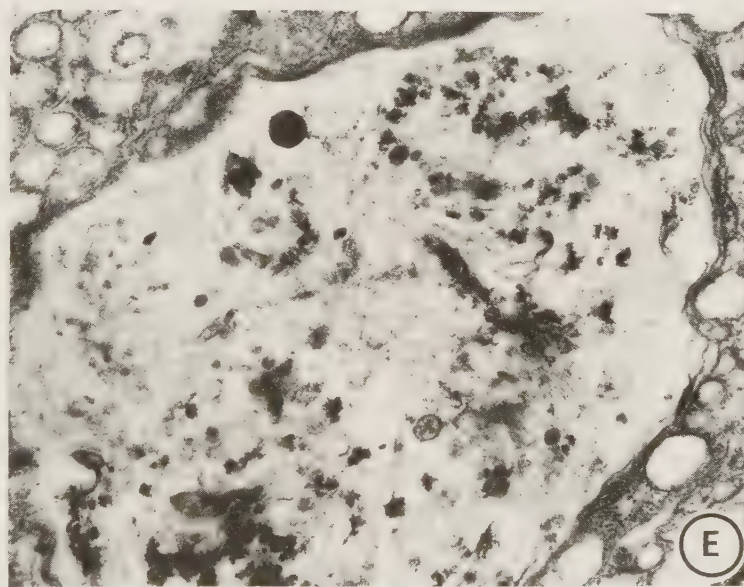
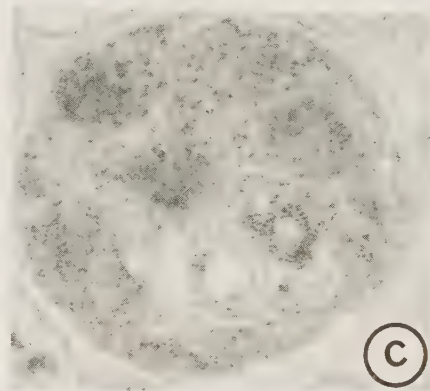
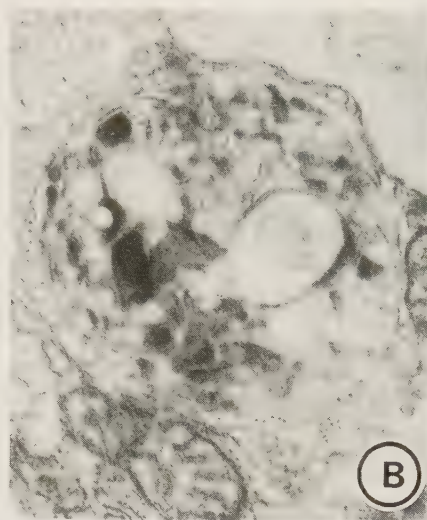
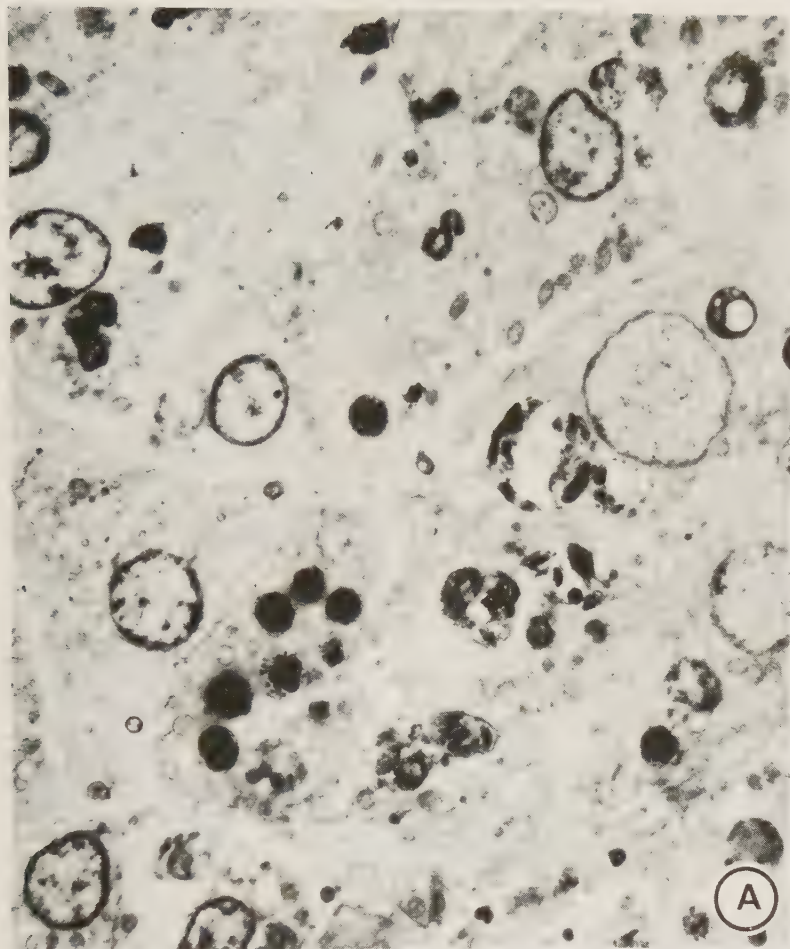


PLANCHE VI

CELLULES SPHERULEUSES

- A. (x 12.900) : Cellule sphéruleuse en fin d'évolution
(= cellule vacuolaire).
- B. (Micr. photon.) : Amas cortical de cellules sphéruleuses.
- C. (x 10.500) : Sphérule compacte dans un fragment
de cellule sphéruleuse.

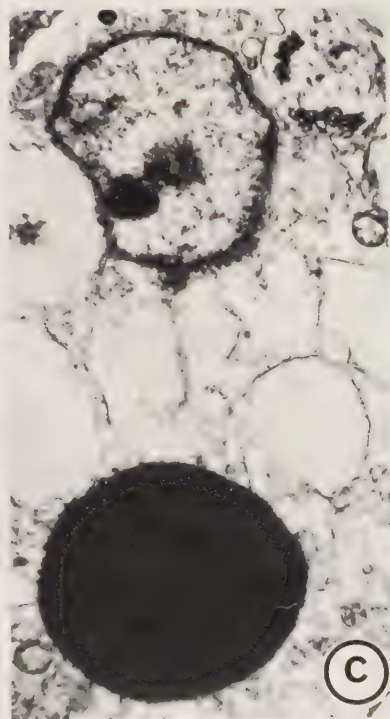
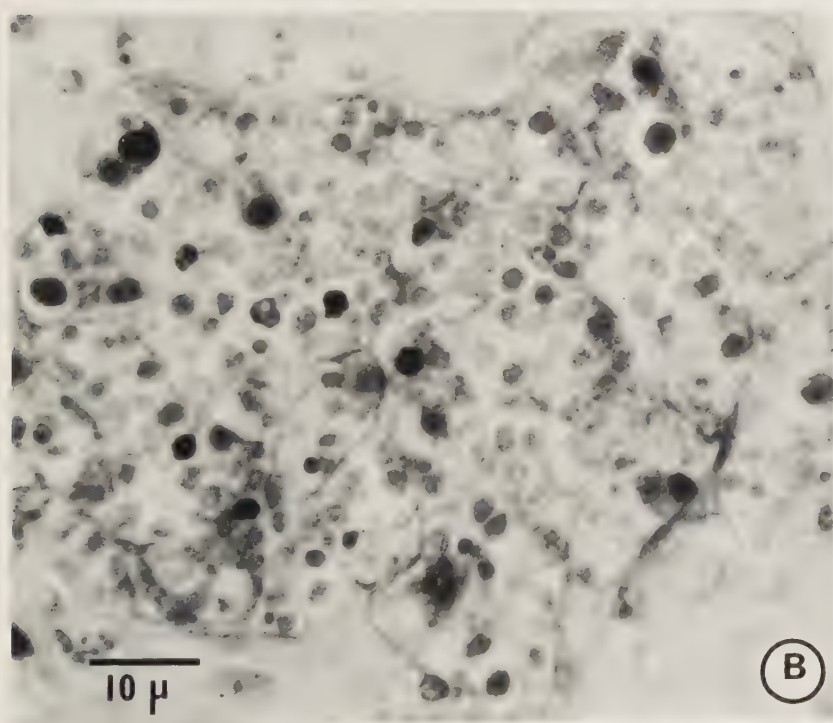
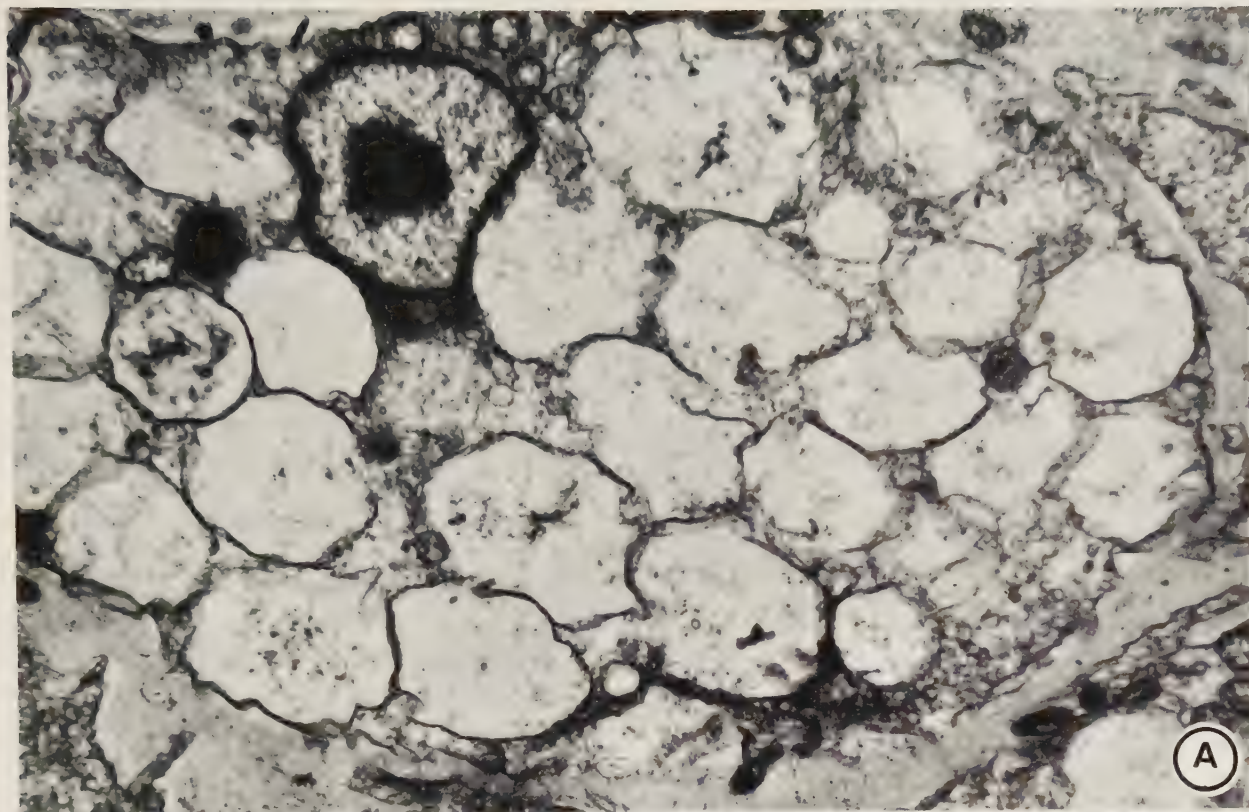


PLANCHE VII

ULTRASTRUCTURE DES CELLULES SPHERULEUSES

- A. (x 21.000) : Détail d'une cellule avec deux sphérules granuleuses et une inclusion de type phagosome. Noter la désintégration du nucléole.
- B. (x 18.900) : Début de dégradation d'une sphérule à côté d'un noyau qui n'a pas dégénéré.
- C. (x 16.400) : Dégénérescence nucléaire; début de disparition du nucléole.
- D. (x 21.000) : Fin de digestion d'une sphérule à l'intérieur d'une vacuole.
- E. (x 48.000 et G. (x 27.900) : Eléments énigmatiques intravacuolaires, à structure périodique.
- F. (x 15.900) : Sphérule présentant une zone très osmiophile et une zone claire.
- G.: appareil de Golgi - Ph. : phagosome - Sph.: sphérule.

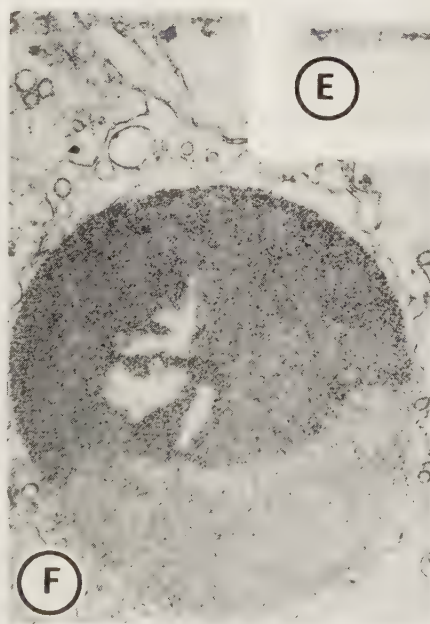
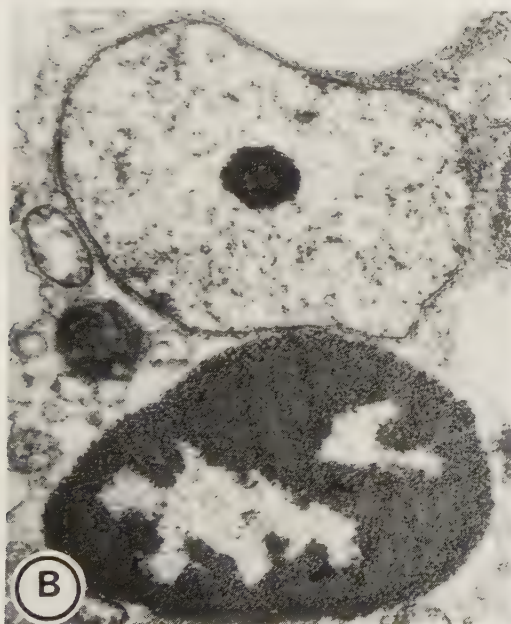
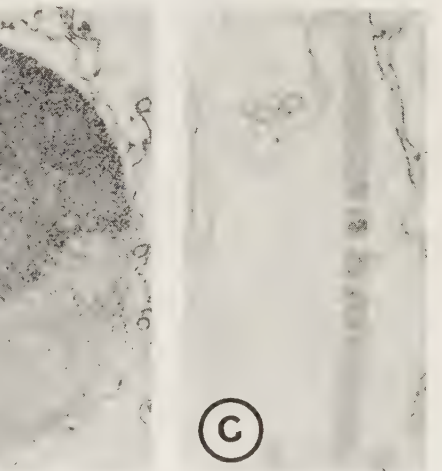
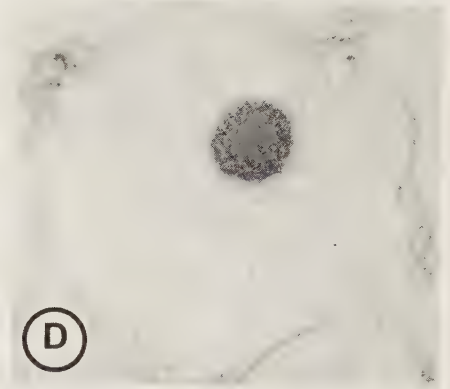
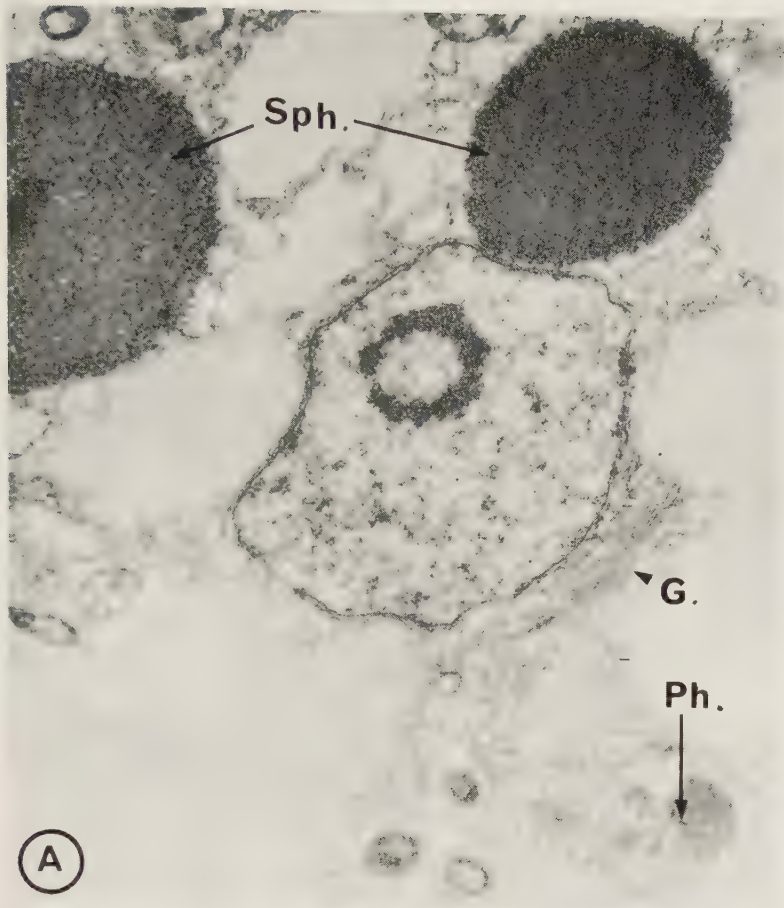


PLANCHE VIII

ULTRASTRUCTURE DES CELLULES GRISES ET MICROGRANULAIRES

A. (x 18.000) : Cellule grise avec inclusions denses, vacuoles claires et glycogène (↑).

B. (x 21.000) : Cellule grise en début d'évolution (cytoplasme incomplètement chargé d'inclusions), se déplaçant dans la mésoglée.

C. (x 21.600) : Cellule microgranulaire.

G.: appareil de Golgi - Gl.: glycogène - M.: mitochondries -
N.: noyau.

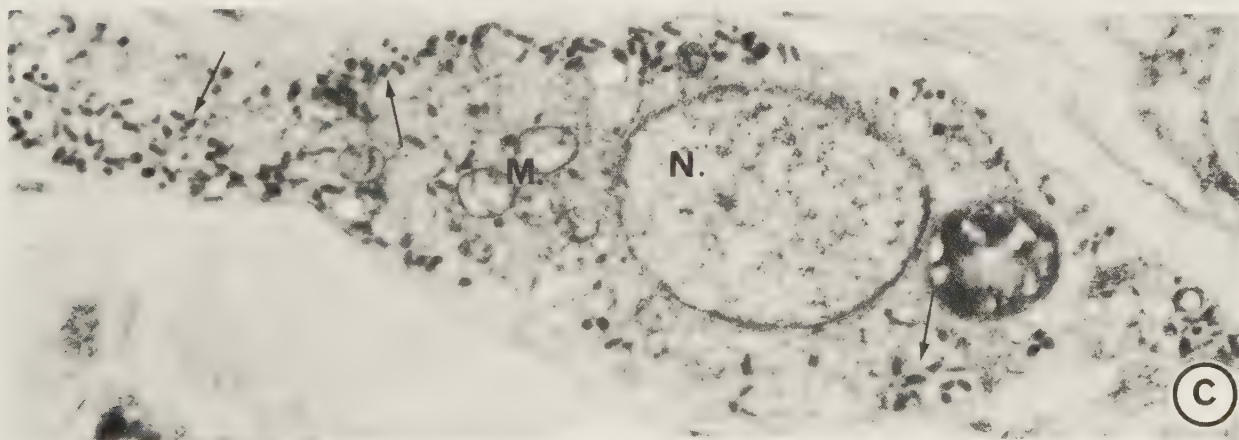
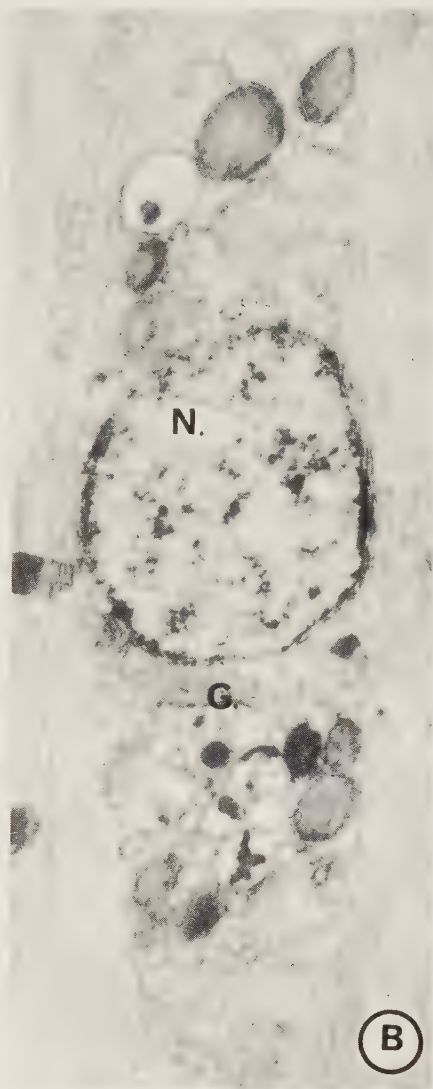
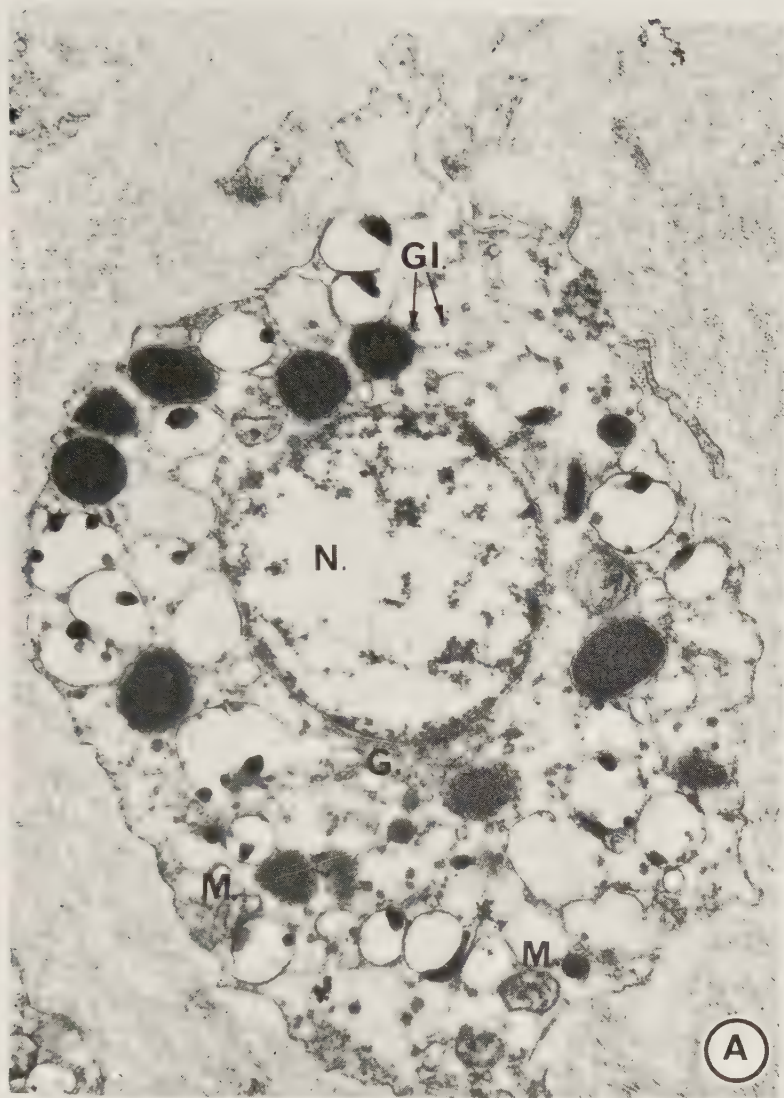


PLANCHE IX

ULTRASTRUCTURE DES SCLEROBLASTES

A. (x 25.000) et B. (x 20.000) : Deux asters dans leur cellule-mère.

C. (x 14.000) : Apparition de grains de silice dans un sclérobaste en début d'évolution.

M.: mitochondrie - N.: noyau - Si.: silice - Sp.: spicule - Sph.: sphérule.

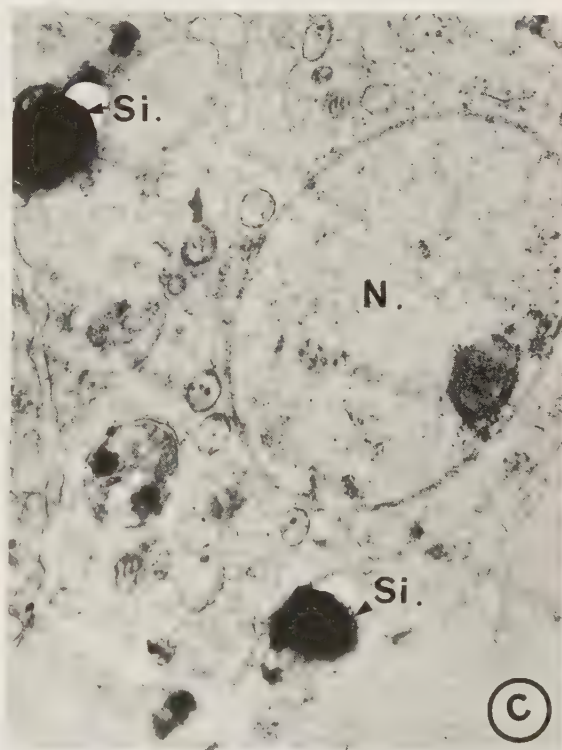
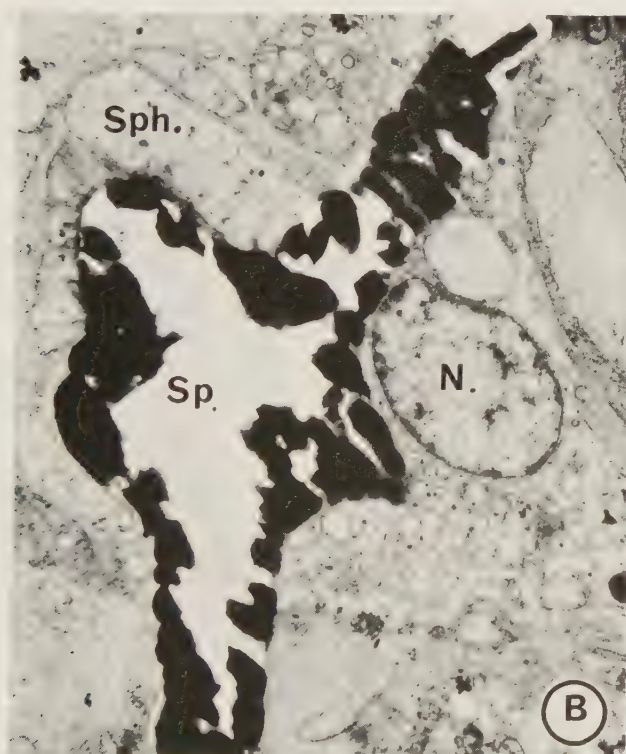
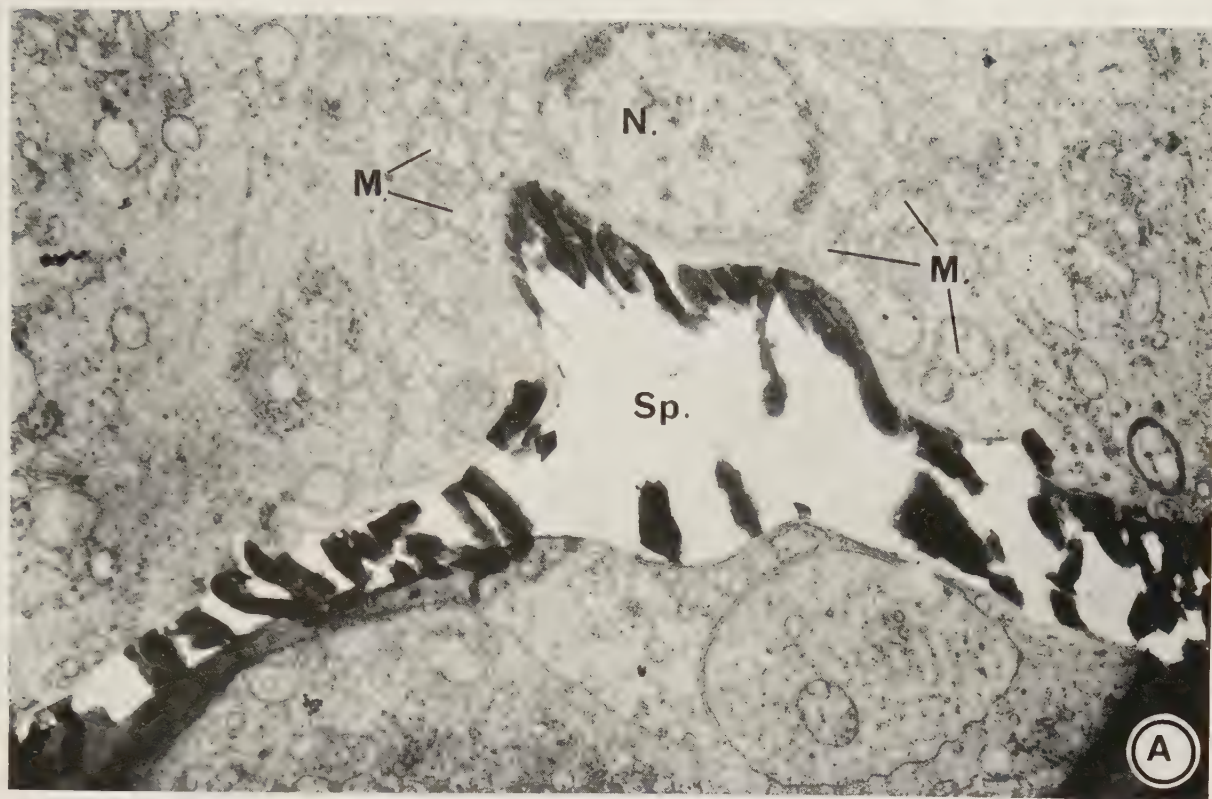


PLANCHE X

TISSU CICATRICIEL ET REGION SOUS-JACENTE
D'UN FRAGMENT EN REGENERATION

A. Opposition entre zone fibreuse (Z.f.) et zone archaeocytaire (Z.Ar.)

B. Lophocytes du tissu cicatriciel en pleine fibrogenèse.

C. Formation de "tissu alvéolaire" au milieu des archaeocytes.

D. Apparition de "tissu alvéolaire" dans la zone fibreuse.

Ar. : archaeocyte - L. : lophocyte - T.a., "tissu alvéolaire".

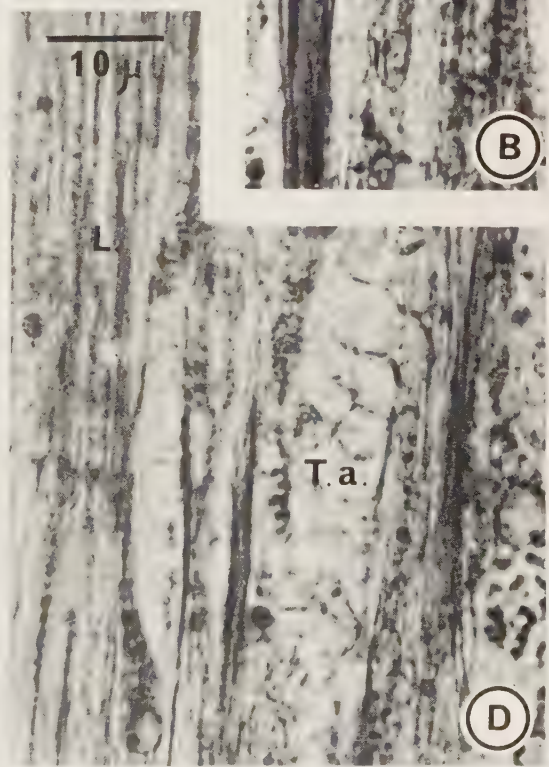
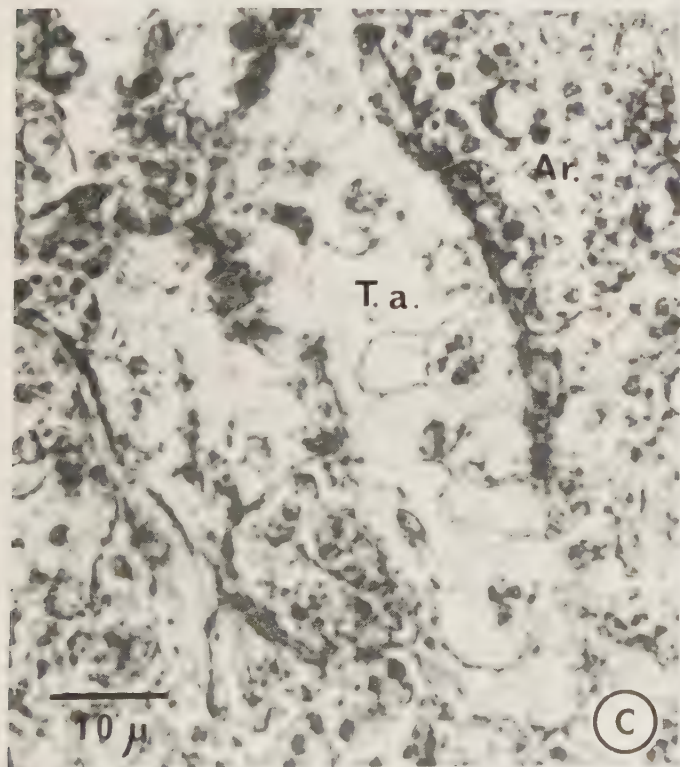
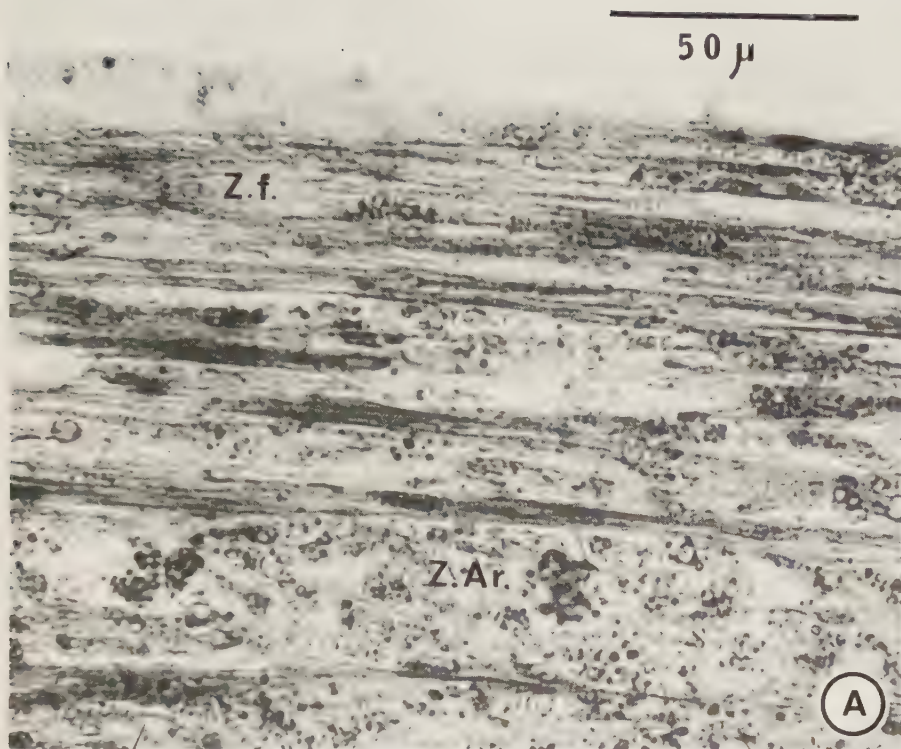


PLANCHE XI

EVOLUTION DU DEPOT DE CELLULES DISSOCIEES,
AU COURS DU TEMPS, EN FONCTION DE LA
CONCENTRATION INITIALE DE LA SUSPENSION

B. Aspect du dépôt cellulaire 5h. après la dissociation, dans
le cas de suspensions concentrées ou diluées.

A.D.F. Evolution du réseau au bout de 24 h., 48 h., 10 j.,
dans le cas de suspensions cellulaires non diluées.

C.E.G. Evolution du réseau au bout de 24 h., 48 h., 10 j.,
dans le cas de suspensions cellulaires diluées au tiers.

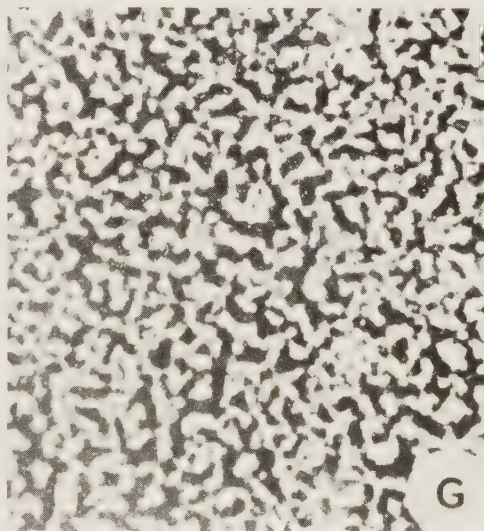
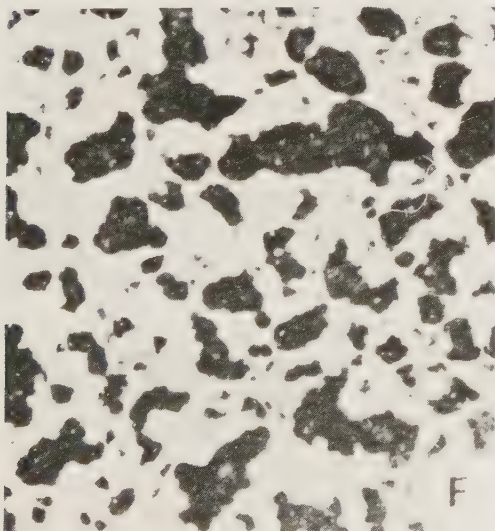
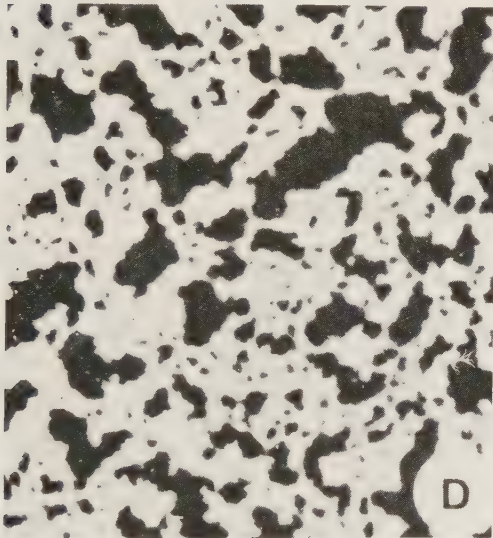
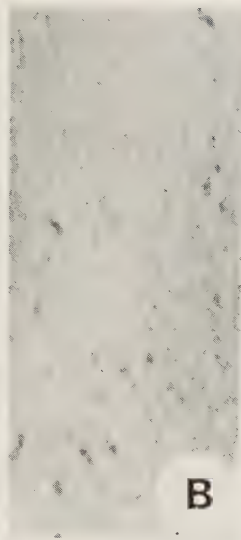
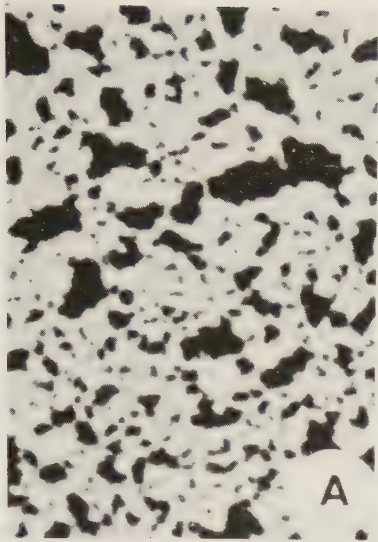


PLANCHE XIII

- A. Partie centrale d'un bourgeon naturel au moment de son apparition. On notera l'abondance des archaeocytes et des lophocytes. Les cellules sphéruleuses sont beaucoup plus périphériques.
- B. Bourgeon "expérimental" de 17 jours avec amas de cellules sphéruleuses à la périphérie.
- C. Jeune Tethya de 10 mois.
- D. Zone périphérique d'un bourgeon "expérimental" de quelques jours montrant l'abondance des amœbocytes sphéruleux et des polyblastes.
- E. Archaeocyte évoluant en pinacocyte au bord d'une lacune, dans un bourgeon "expérimental" de 10 mois.

Am.C.sph.: amas de cellules sphéruleuses -

Ar. : archaeocyte - Po.: polyblaste.

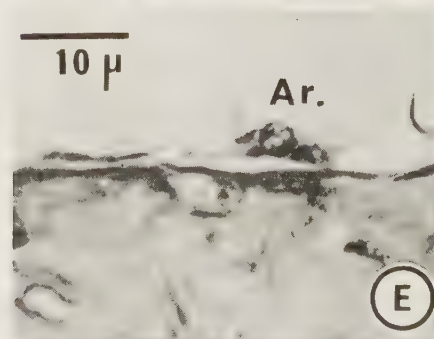
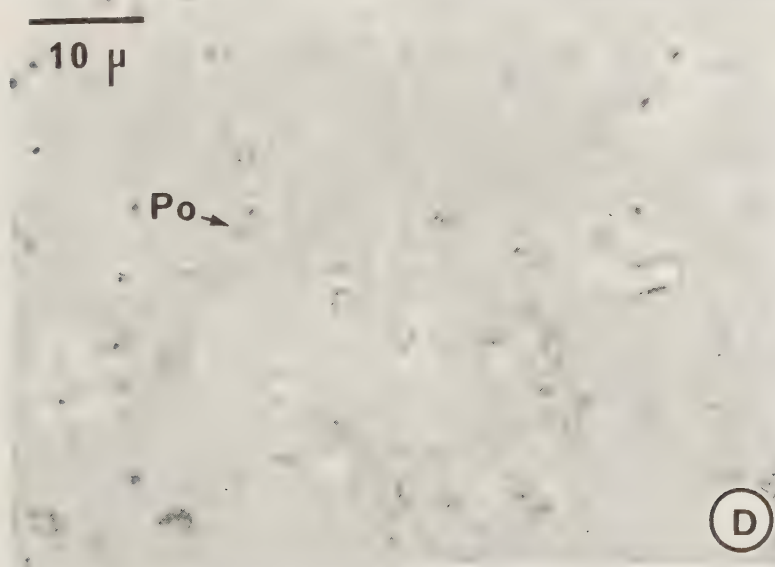
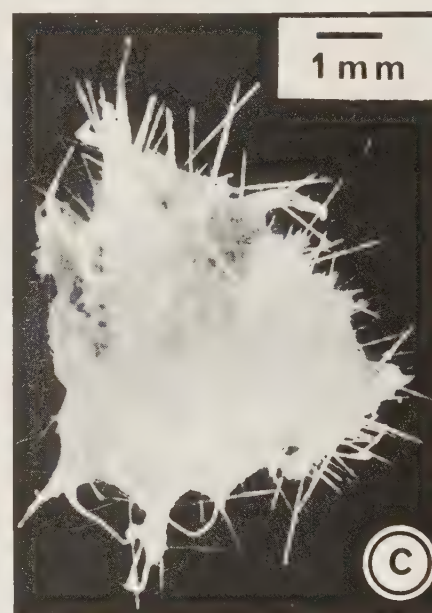
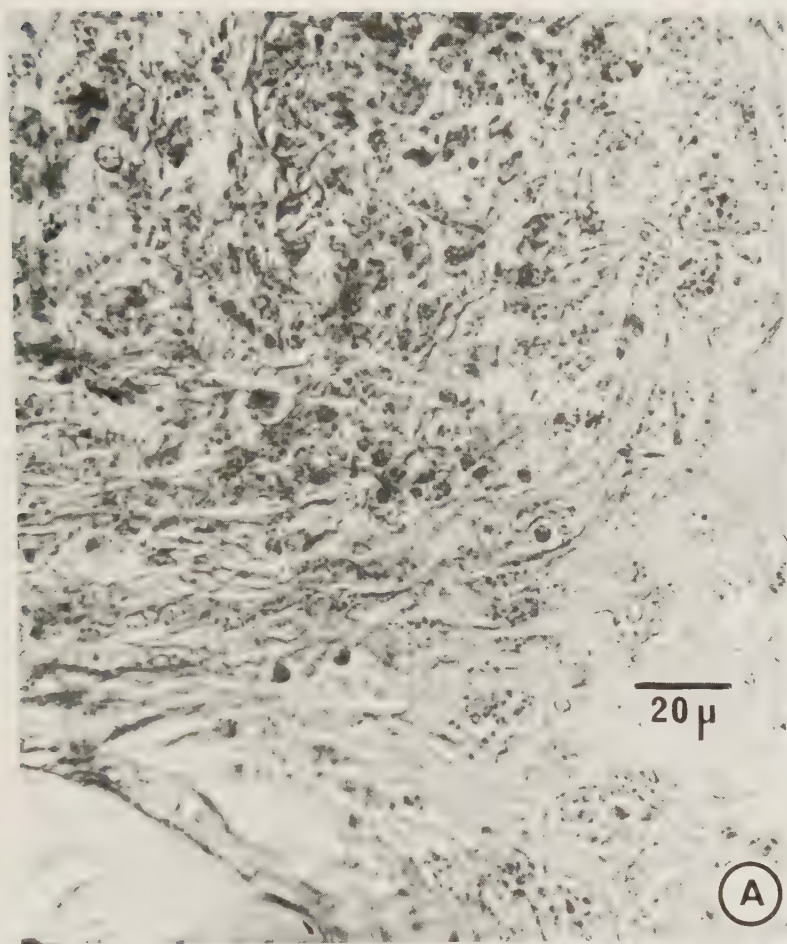


PLANCHE XIV

APPARITION DES CORBEILLES VIBRATILES DANS UNE JEUNE TETHYA. MITOSES AU NIVEAU DU CHOANOSOME

- A. Ectosome et choanosome d'une jeune Tethya d'un an.
- B. Détail du choanosome d'une Tethya de 10 mois au moment de la formation des corbeilles.
- C. Préparation de la prophase dans un archaeocyte (↗).
- D. Préparation de la prophase dans deux archaeocytes et fin de mitose donnant deux choanoblastes (↗).
- E. Fin d'anaphase dans un archaeocyte (↗).
- F. Métaphase dans deux choanocytes (↗).

Ar.: archaeocyte - C.v.: corbeille vibratile - Ch.: choanocyte -
Chbl.: choanoblaste - Lac.cort.: lacune corticale.

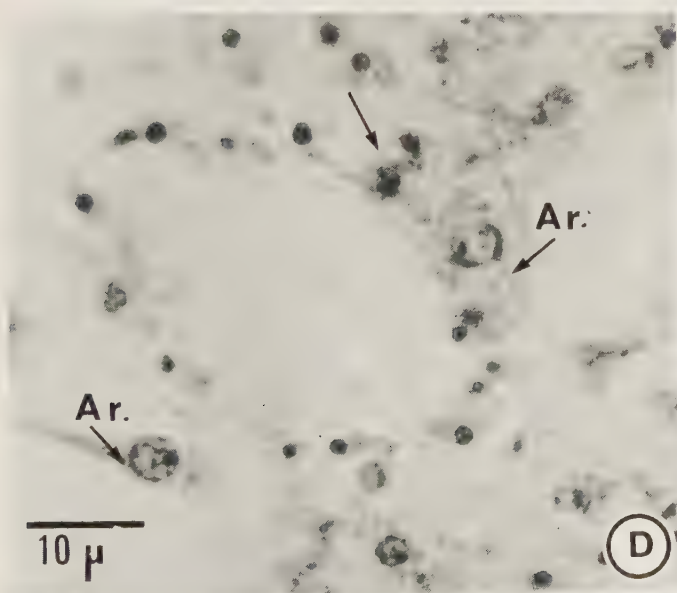
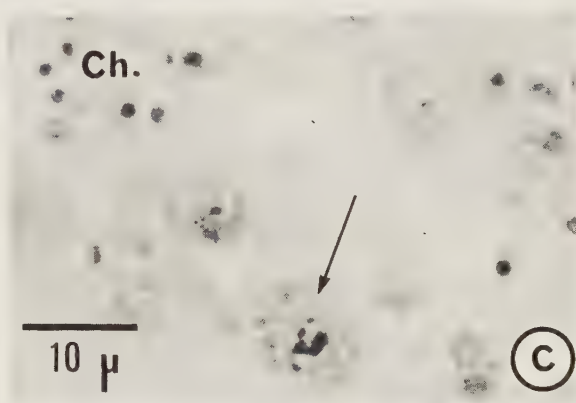
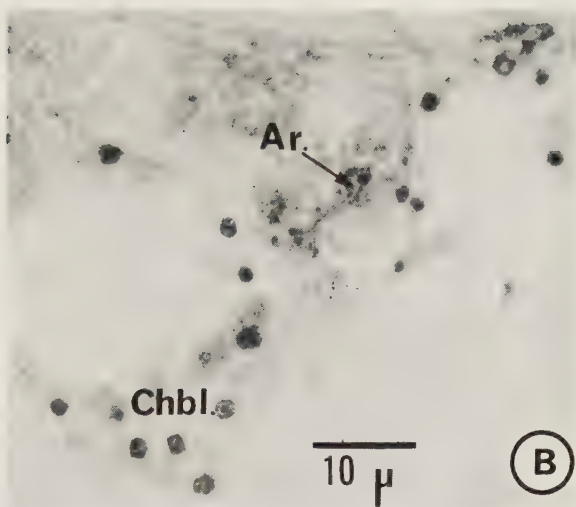
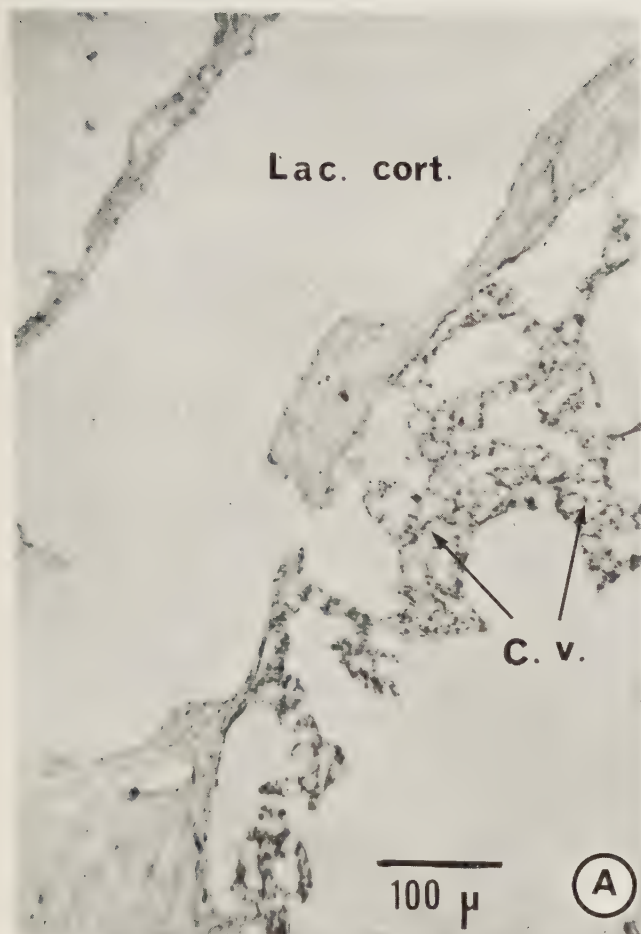


PLANCHE XV

EVOLUTION DES BOURGEONS NATURELS

- A. Bourgeon naturel après un mois de vie libre : les archaeocytes élaborent les premières corbeilles; certains participent à la synthèse du collagène jusqu'à leur im - mobilisation.
- B. Bourgeon naturel après un mois de vie libre : certaines corbeilles vibratiles ont encore leur lumière entièrement occupée par les flagelles et les collerettes.
- C. Bourgeon naturel après un mois de vie libre : noter l'abondance des inclusions granuleuses dans les jeunes choanocytes et l'aspect des collerettes formant "membrane de SOLLAS".
- D. Bourgeon naturel après un mois de vie libre : le revêtement des canaux aquifères est fait de pinacocytes ou d'archaeocytes qui vont les engendrer.

Ar.: archaeocyte - C.ex.: canal exhalant - C.v.: corbeille vibratile - J.Ch.: jeune choanocyte - L.: lophocyte - P.: pinacocyte - P.f.: panache fibrillaire.

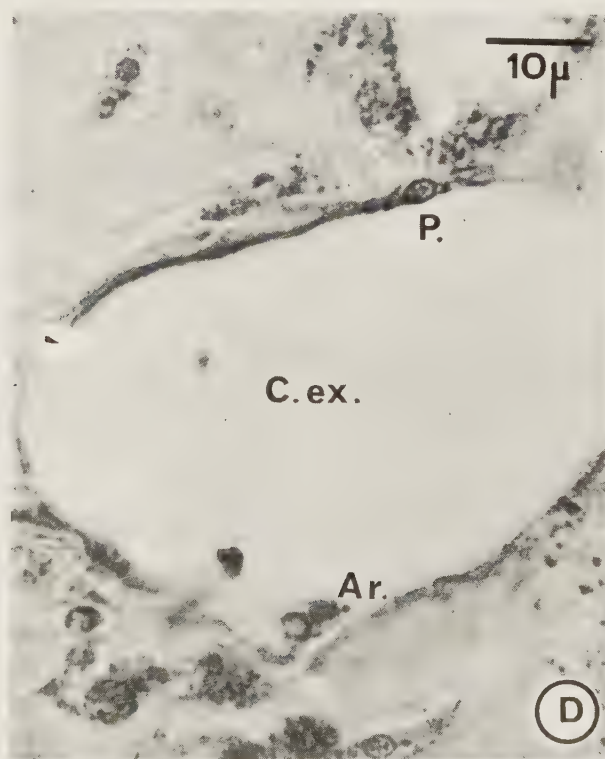
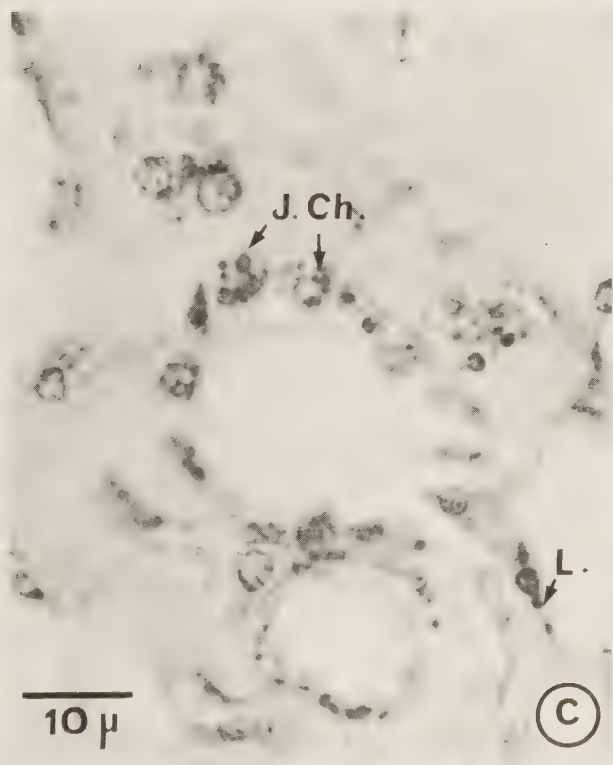
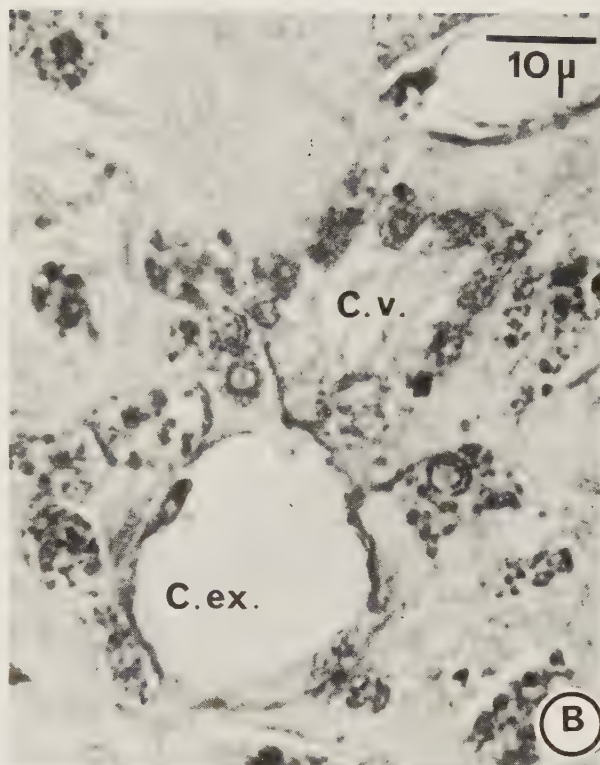
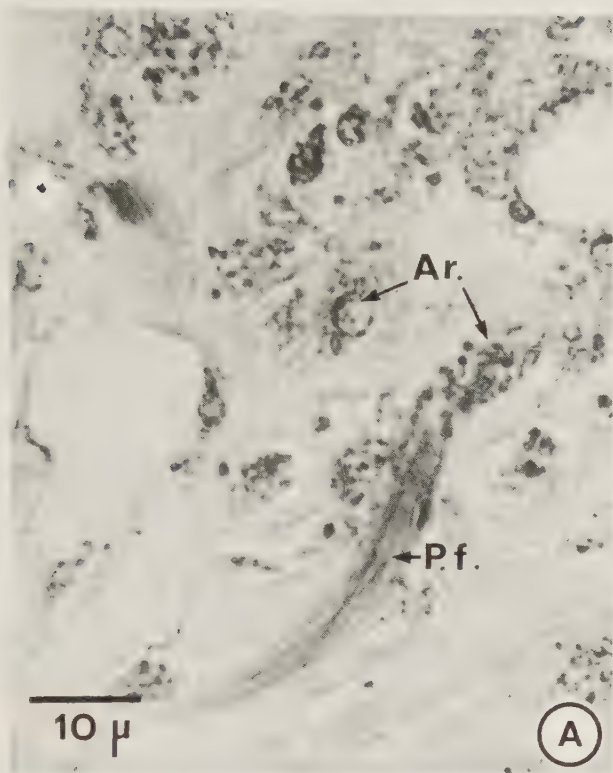


PLANCHE XVI

REACTIONS TISSULAIRES DE TETHYA
VIS-A-VIS D'UN AMPHIPODE

- A. Aspect général du tissu réactionnel délimitant la loge occupée par l'Amphipode. Importance des traînées de cellules en migration (↑).
- B. Composition tripartite du tissu réactionnel.
- C. Détail de la zone intermédiaire en un point où la plupart des cellules sont tassées et dégénérantes.
- D. Fin de la zone des cellules migratrices avec formation, par endroits, de "tissu alvéolaire".

C.: "cuticule" - L.: loge - Z.i.: zone intermédiaire -
Z.c.m.: zone des cellules en migration.

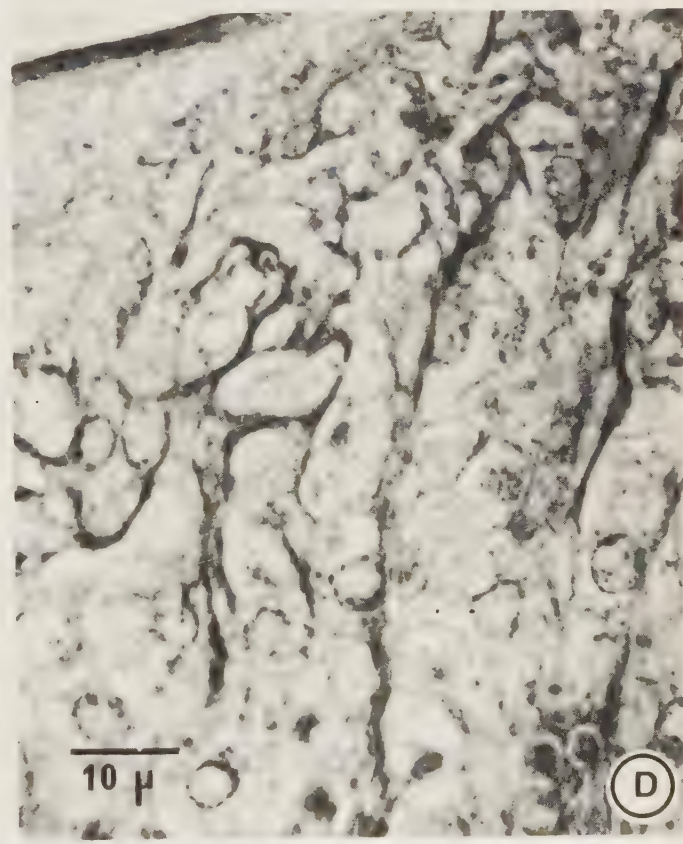
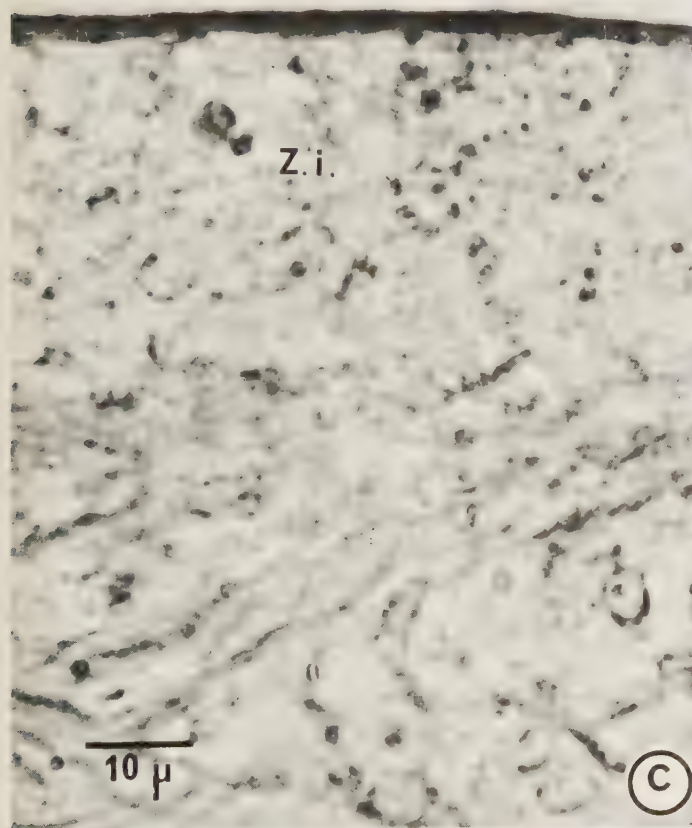
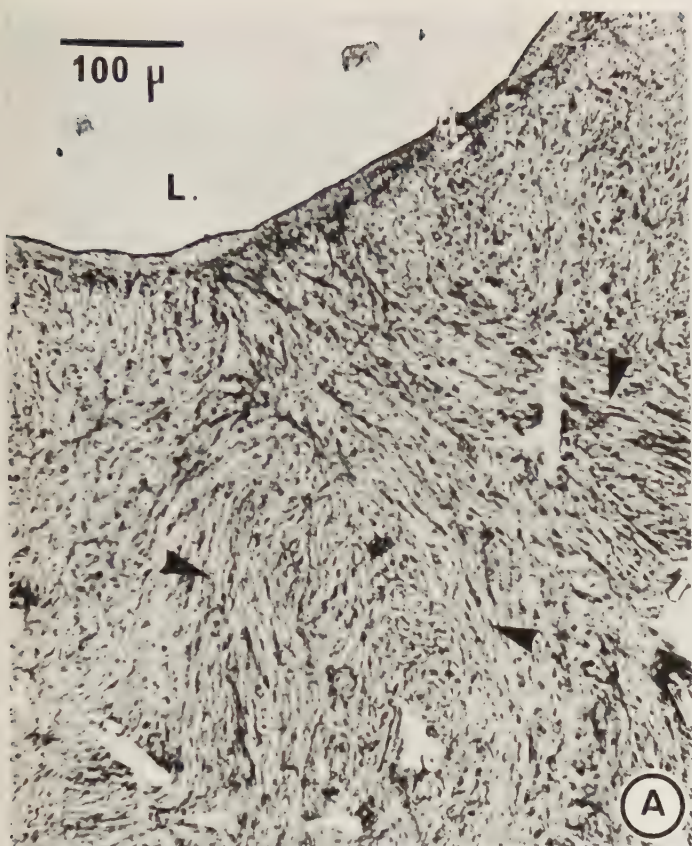


PLANCHE XVII

- A. Accumulation d'asters en bordure du cortex pour faciliter le rejet d'un amas de bactéries et de déchets.
- B. Quelques cellules en migration (archaeocytes et lophocytes) vers la loge occupée par l'Amphipode. Hypertrophie nucléolaire dans un archaeocyte (↗).
- C. Aspect de deux agrégats de 24h. montrant l'apparition d'un système de canaux (↗).
- D. Détail d'un agrégat de 20 h. montrant la réorganisation d'une corbeille vibratile.
- E. F. Préparation d'amitose dans deux cellules : présence d'une ceinture équatoriale nucléaire (↗).

Ar.: archaeocyte - C.v.: corbeille vibratile -
L.: lophocyte - Po.: polyblaste.

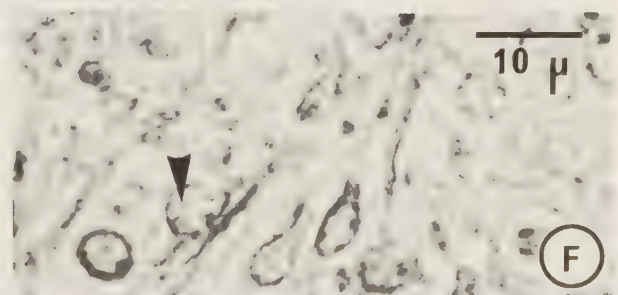
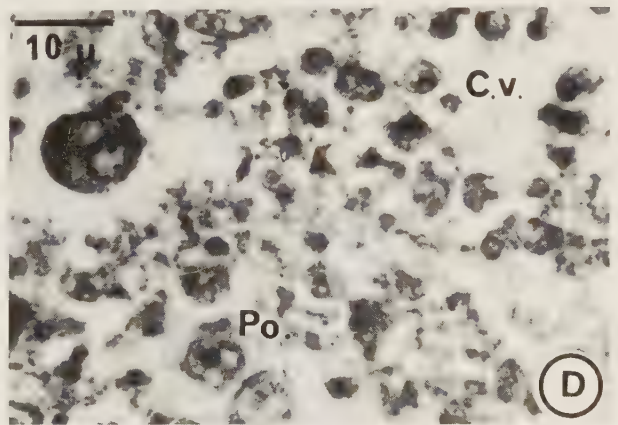
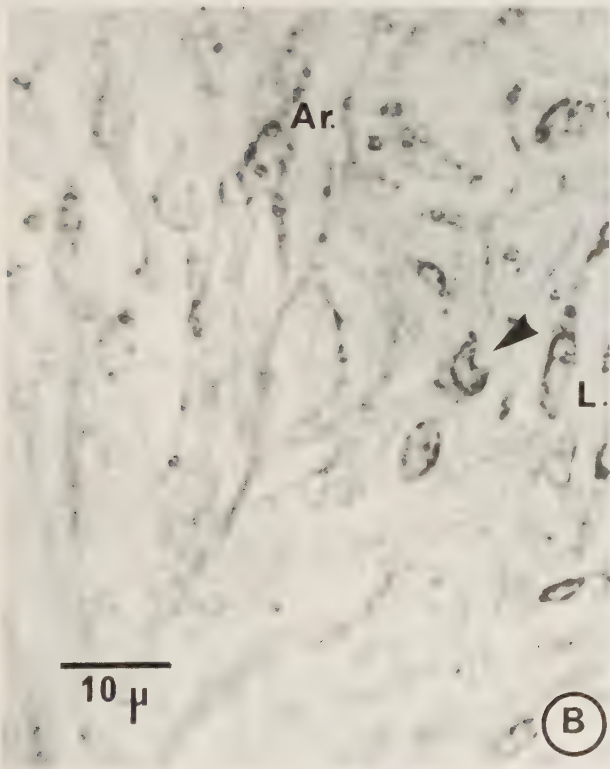
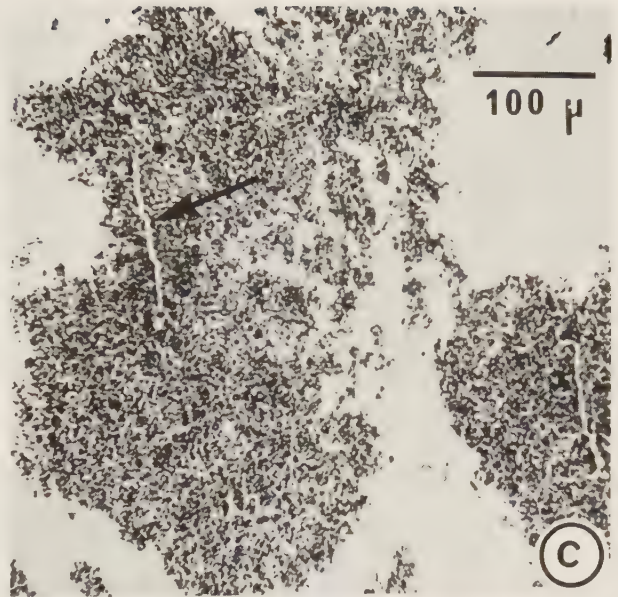
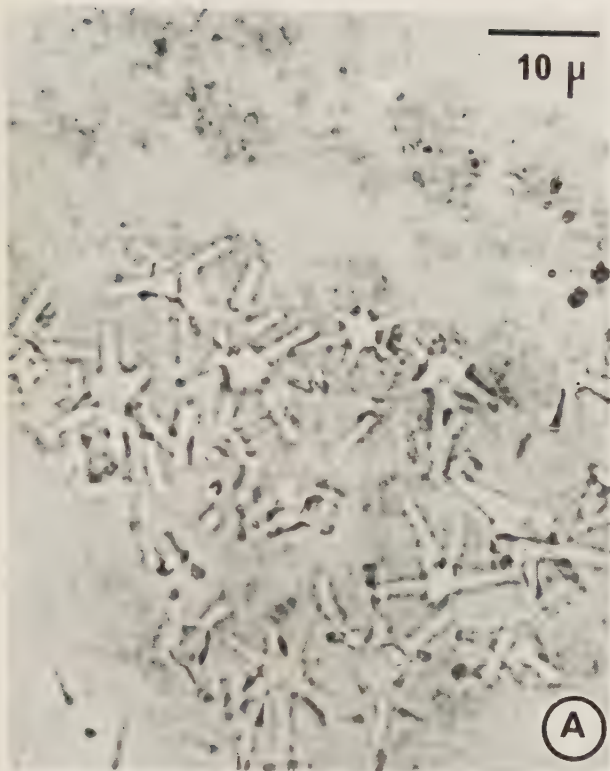


PLANCHE XVIII

ASPECT MORPHOLOGIQUE DU BOURGEONNEMENT DE SYCON

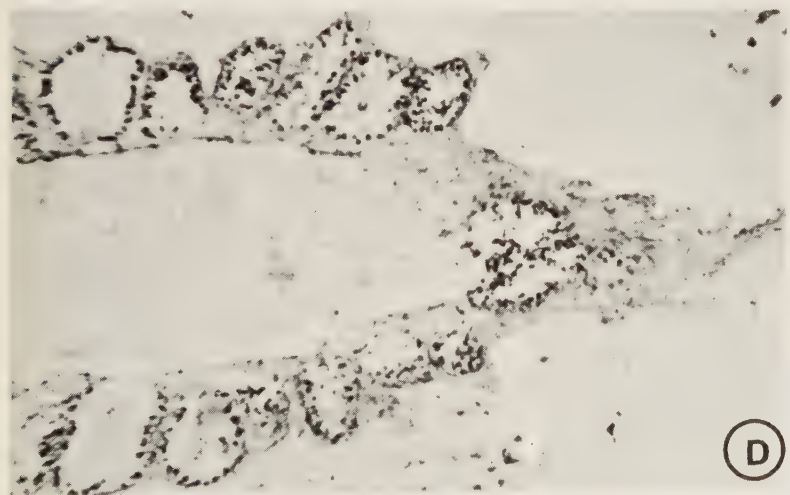
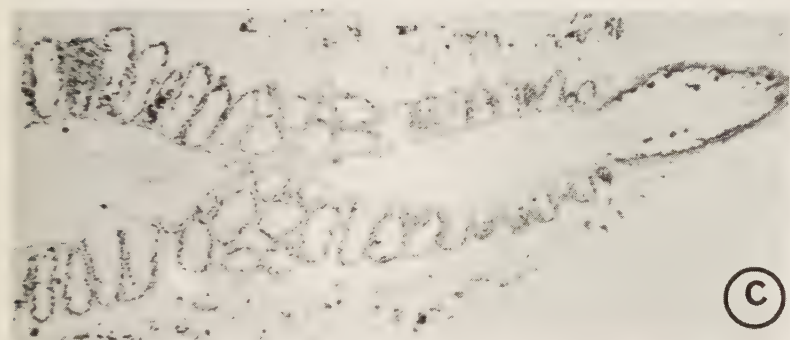
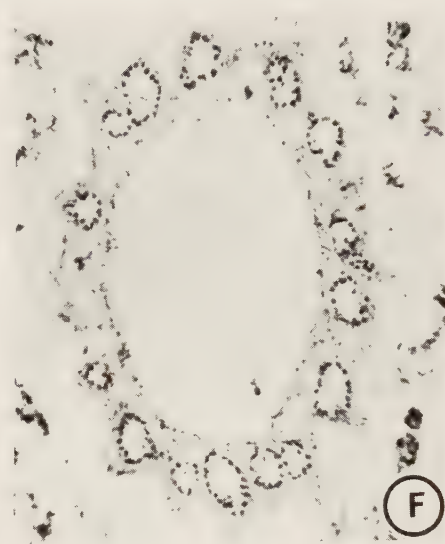
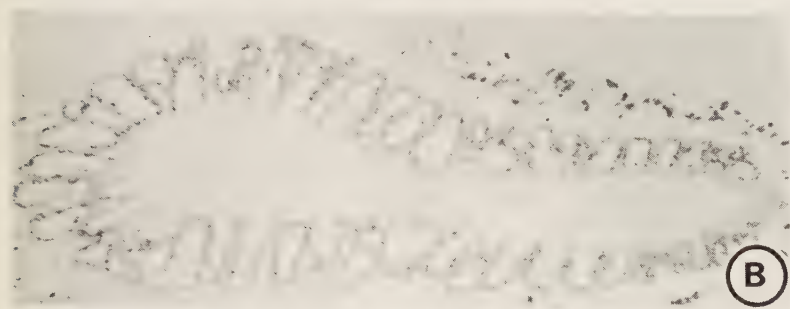
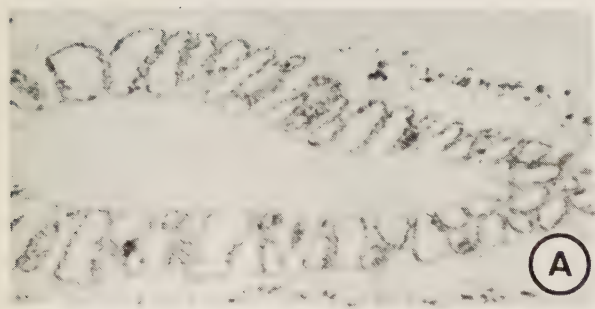
- A. Bourgeonnement basal accompagné d'une bipartition de la région inférieure du corps.
- B. Jeune Sycon néoformé, sans couronne péri-osculaire (1).
- C. Collectivité obtenue par bourgeonnement du plus gros des individus.
- D. Double bourgeonnement basal.



PLANCHE XIX

ASPECT ANATOMIQUE DU BOURGEONNEMENT DE SYCON

- A. Déformation de l'atrium et modification des chambres vibratiles à une de ses extrémités.
- B. Accroissement de la déformation atriale et apparition de la saillie mésenchymateuse, ébauche du bourgeon.
- C. Bipartition de l'atrium et formation du tube correspondant au bourgeon.
- D. Désintégration des chambres vibratiles au niveau du bourgeon : les choanocytes vont tapisser uniformément le tube qui se développe.
- E. Section transversale du bourgeon tubulaire équivalent à une structure asconoïde.
- F. Section transversale du même bourgeon au niveau où les choanocytes sont entièrement entourés de mésenchyme.
- G. Section transversale du bourgeon devenu un jeune Sycon : les chambres vibratiles développées s'ouvrent dans l'atrium.



DEUXIEME THESE

LES NEOBLASTES DANS LA REGENERATION DES
PLANAIRES .

Vu et permis d'imprimer
Montpellier, le

Le Doyen de la Faculté
des Sciences,

